



الجمهورية العراقية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة البصرة

الميكروبيولوجي الصناعي

الجزء الاول

أساسيات التخمرات الصناعية

تأليف

الدكتور عادل جورج ساجدي

استاذ مساعد

الدكتور علاء يحيى محمد علي

مدرس

قسم الصناعات الغذائية والألبان

كلية الزراعة — جامعة البصرة

تقديم

يعد الميكروبيولوجي الصناعي حقلا دراسيا واسعا ومعقدا ، والمعلومات المتعلقة به كثيرة الا أن المعلن عنها قليل لكون قسم منها لا يزال سرا لا تفصح عنه المؤسسات المتخصصة في هذا المجال .

ويشمل الميكروبيولوجي الصناعي الاستخدامات العديدة للحياة المجهريّة في إنتاج مواد ذات قيمة اقتصادية كبيرة جدا وكذلك استغلال المخلفات أنتاجة عن المصانع والتجمعات السكانية في المدن ، فضلا عن الحيلولة دون تلف أغذية الانسان الطبيعية والمصنعة بواسطة الاحياء المجهريّة غير المرغوبة . وبدون تظافر علم الاحياء المجهريّة والكيمياء بفروعها المختلفة والعلوم الهندسية وغيرها من العلوم الاخرى ، لا يمكن إيجاد حلول للمعضلات التي تعترض تقدم العاملين في مجال الميكروبيولوجي الصناعي .

وتتشابه الاسس التي تقوم عليها التخمرات الصناعية في إنتاج مادة ما الا أنها تختلف في العمليات التفصيلية .

ولسنا نخفي أنه حينما راودتنا فكرة تأليف هذا الكتاب ، ليكون مرجعا شاملا للعمليات الميكروبيولوجية الصناعية الاساسية ، ان ترددنا في الامر طويلا . الا اننا استمنا بالله الملي القدير وبالدعم اللامحدود الذي توليه القيادة السياسية للحزب والثورة لحركة تأليف وتمريب الكتب الجامعية في القطر وبدأنا أول الطريق وسرنا فيه غير مدخرين وسما ولا ضائنين بجهد حتى انتهينا منه .

ان الجزء الاول من هذا الكتاب بأبوابه الاربع يتضمن الكثير من الاساسيات والامور التفصيلية عن المواضيع الحيوية التي تهتم الطالب والباحث والمشتغل في هذا المجال من كيميائيين وميكروبيولوجيين صناعيين وغيرهم . وحاولنا جهدنا أن نجعل أكبر عدد من الابحاث والدراسات والمراجع الحديثة ذات العلاقة ونضمها أمام القاريء متناسقة ومترابطة وواضحة بالرسم والصور .

وقد لاقينا صعوبة في عدم وجود بعض المصطلحات المقاربة للمصطلحات
الاجنبية ، فما كان علينا الا تثبيت تلك المصطلحات بالنص كما وردت في معناها
ولفظها الاجنبيين •

ونرجو أن نكون قد وفقنا في ملء الفراغ الواسع في المكتبة المربية التي
تفتقر الى وجود كتب متخصصة من هذا النوع •

واننا اذ نقدم مجهودنا هذا ، نقدمه ونحن راضون عنه كل الرضا في غير
تبه ولا خيلاء ، فكلنا أمام الخالق المعجز ضغفاء وأمام العلم صغار لم نشب عن
الطوق • كما نلتمس المندزة من أخطاء ينير قصد أو تصويب أو لم نصل بكتابنا
الى الكمال ، ان الكمال لله وحده جل جلاله •

وفي الختام نود أن نقدم جزيل شكرنا وتقديرنا الى كل من أسهم في تقويم
وطبع هذا الكتاب وإبرازه الى حيز الوجود أملين أن نكون قد حققنا جزءا من
الواجب الملقى على عاتقنا من أجل خدمة وطننا العزيز •
والله ولي التوفيق

المؤلفان

الدكتور عادل جورج ساجدي

الدكتور علاء يحيى محمد علي

المحتويات

الصفحة

الباب الاول - مقدمة

- الفصل الاول : فكرة عامة عن التخمرات الصناعية 9
الفصل الثاني : التطور التاريخي للتخمرات الصناعية 15
الفصل الثالث : أجهزة ومعدات التخمر 23
مراجع الباب الاول : 39

الباب الثاني - الاسس التي تعتمد عليها عمليات التخمر الصناعي

- الفصل الاول : فكرة عامة عن الاحياء المجهرية وصفاتها 43
الفصل الثاني : أطوار نمو الاحياء المجهرية 93
الفصل الثالث : الاحتياجات الغذائية للاحياء المجهرية 101
الفصل الرابع : البيئات الغذائية للاحياء المجهرية 117
الفصل الخامس : عزل وتنقية الاحياء المجهرية 137
الفصل السادس : مزارع الاحياء المجهرية النقية وطرق حفظها 153
الفصل السابع : اللقاح أو المباديء 169
الفصل الثامن : التخليل والتهوية في التخمرات الصناعية 179
الفصل التاسع : التخمير 197
الفصل العاشر : التخمرات المزدوجة أو المتعددة 215
الفصل الحادي عشر : التخمرات المتقطعة والمستمرة 219
الفصل الثاني عشر : كلفة وتحليل نواتج التخمر 229
الفصل الثالث عشر : سمائل مخلفات التخمر 299
الفصل الرابع عشر : اقتصاديات التخمر 319
مراجع الباب الثاني : 330

الباب الثالث - العمليات الايضية للاحياء المجهرية

الصفحة

340	الفصل الاول : الاسس العامة لمسارات نقل الطاقة والمسارات الايضية
361	الفصل الثاني : توليد ونقل الطاقة الحيوية
373	الفصل الثالث : الايض اللاهوائي للكربوهيدرات
385	الفصل الرابع : مسار فوسفات البنتوز
399	الفصل الخامس : الاكسدة الهوائية للكربوهيدرات
411	الفصل السادس : سلسلة نقل الالكترونات والفسفرة التأكسدية ...
424	مراجع الباب الثالث :

الباب الرابع - اتجاهات في الميكروبيولوجي الصناعي

429	الفصل الاول : المنتجات الاولى لايض الاحياء المجهرية
449	الفصل الثاني : المنتجات الثانوية لايض الاحياء المجهرية
463	الفصل الثالث : العوامل الوراثية للاحياء المجهرية
477	الفصل الرابع : الطفرات الوراثية في الاحياء المجهرية
489	الفصل الخامس : تطبيقات الوراثة الجديدة
503	
508	مراجع الباب الرابع :

معجم المصطلحات العلمية

PART 1

الباب الاول

مقدمة

INTRODUCTION

الفصل الأول

فكرة عامة عن التخمرات الصناعية

General Scope of Industrial Fermentations

ان الميكروبيولوجي الصناعي هو ذلك الجزء من علم الميكروبيولوجي الذي يبحث في الاستخدامات الممكنة للاحياء المجهرية في العمليات الصناعية ، أو في العمليات التي تصبح نشاطاتها ذات أهمية صناعية أو تقنية .

وفي معظم الاحوال يستخدم المقياس الاقتصادي عند الرغبة في اجراء أو منع نشاط أیضی معين ، وهذا دليل على ان الميكروبيولوجي الصناعي حقل واسع جدا للدراسة . وفي الحقيقة ، يمد الكثير من الحقول غير الصناعية لعلم الميكروبيولوجي مهة للمتخصص في الميكروبيولوجي الصناعي ، ويجب أن توضع في الاعتبار لفهم أفكار وتطبيقات الميكروبيولوجي الصناعي . وتتضمن هذه الحقول ، ميكروبيولوجي التربة والزراعة ، والميكروبيولوجي الطبي ، وفلسفة الميكروبات ، وعلم السائتولوجي وعلم المورفولوجي ، وعلم الفيروسات ، والوراثة ، وميكروبيولوجي الاحياء البحرية ، وميكروبيولوجي الاغذية والالبان ، وعلم المناعة . ان فروع المعرفة أو الدراسة التي لا تمد عادة من ضمن علم الاحياء المجهرية مثل الكيمياء العضوية واللاعضوية والفيزيائية ، والكيمياء الحيوية ، والهندسة ، والطب ، والاقتصاد ، والتسويق والقانون وخصوصا قانون براءات الاختراع أو الاكتشاف تمد فروعاً ذات أهمية بالغة للمتخصصين في الاحياء المجهرية الصناعية . بالإضافة الى ذلك فإن الحقول التي لا تمد حالياً ذات علاقة بالميكروبيولوجي الصناعي ، يمكن بسهولة أن تصبح تحت ظروف مناسبة مادة للدراسة .

وقد عرفت لعدة عقود أنواع عديدة من الخمائر والاعفان وفطريات واطئة أخرى وأنواع أو مجاميع عديدة من البكتريا بأن لها علاقة مباشرة سواء كانت مرغوبة أو غير مرغوبة مع بعض أنواع العمليات الاقتصادية الجارية المرتبطة بالعمليات الصناعية مثل صناعة البيرة ، وصناعة النبيذ ، وصناعة الجبن والنخ ، التي نشأت من فنون ضيقة النطاق أو منزلية . الا ان المعرفة في هذا الحقل توسعت في السنوات الاخيرة نتيجة للابحاث الجارية في العالم وفي مجالات متعددة . وقد توسع نطاق العمليات وتركز في المصانع الكبيرة ، وبالتالي حلت الصناعة محل الفنون المنزلية . وقد جعلت هذه التغيرات بصورة واضحة الميكروبيولوجي الصناعي ليس فقط فرعاً من الدراسة متزايد الأهمية بل لقد أصبح فرعاً مهماً جداً للملم التطبيقی وواحداً من أكبرها امكانية .

وعند مناقشة الميكروبيولوجي الصناعي ينبغي تأكيد فائدة المعرفة في هذا العقل وأهميتها من زاويتين تطبيقيتين متضادتين تماما هما :

الزاوية الاولى والاكثر ايجابية ، هي معرفة الخصائص البايولوجية والكيميائية لاناوع عديدة من الاحياء المجهرية التي تعد المسببات الرئيسة والمباشرة لتحويل المواد كيميائيا الى النواتج المرغوبة . وبالتالي يمكن استخدام الاحياء المجهرية القادرة بواسطة عمليات تخمرية على انتاج كميات كبيرة نسبيا من المواد الكيميائية ذات الفائدة والقيمة الاقتصادية . وفي هذا النوع من العمليات فإن الطرق الكيمو حيوية تعد في بعض الاحوال هي الطرق الملائمة الوحيدة للانتاج . والامثلة على ذلك انتاج بعض الاحماض العضوية كاللاكتيك والايثانوليك والكوجيك والديكستران وبعض الفيتامينات وأغلب المضادات الحيوية .

ويكتسب الجزء الذي تقوم به الاحياء المجهرية في العمليات المركبة أهمية متساوية بالنسبة للميكروبيولوجيين ، حيث ان مردود ذلك هو انتاج كميات صغيرة نسبيا من النواتج الثانوية المرغوبة التي يجب أن تتواجد كمواد ثانوية ولكنها مكونات مهمة في الناتج النهائي . والزاوية الثانية ، فقد لوحظ أن تخمرات الاحياء المجهرية قد لا تكون دائما مرغوبة بل قد تكون على العكس تماما . اذ يؤدي التلوث بأحياء غير مرغوبة الى تلف التخمرات الجارية بواسطة أحياء أخرى مرغوبة . وبالتالي مثلما يكون من الاهمية معرفة الاحياء المجهرية المفيدة لعملية ما ، كذلك ينبغي وجود معرفة للاحياء المجهرية التي قد تكون ضارة في عملية تصنيع ما وتسبب في خسارة اقتصادية .

ان المتخصص في الميكروبيولوجي الصناعي والمتدرب جيدا ينبغي أن تكون له القدرة على اكتشاف وتمييز نوع التلف الذي تسببه هذه الاحياء ، لكي يكون متمكنا وضليما في طرق مقاومتها .

ويهتم علم الميكروبيولوجي الصناعي نفسه بمزل وتشخيص الاحياء المجهرية من البينات الطبيعية كالتربة أو الماء ، وبالظروف المثلى للانتاج الصناعي المرغوب سواء في المخبر أو في الاوعية الكبيرة والتي تعرف بالتخمرات Fermentors .

ومن الواضح أن تصميم وتحسين واستخدام هذه المخمرات يكون من الأمور المهمة جدا .

وتعد وسائل الكشف والتقدير من النواتج الكيميائية للنشاط الميكروبي جزءا من الميكروبيولوجي الصناعي مثل الاسترجاع ، والتنقية الكيميائية ، والتعبئة والتغليف ، والتسويق لمنتجات التخمر . وبالتالي ، فإن مقدرة الاحياء المجهرية على تحويل المواد الأولية الرخيصة الى مواد عضوية ذات قيمة اقتصادية كبيرة تعدد من الأمور التي يهتم بها علم الميكروبيولوجي الصناعي . وتكتسب القيمة الاقتصادية للخلايا الميكروبية نفسها ، والانزيمات الداخلية والخارجية التي تفرز من قبل الاحياء المجهرية أهمية متزايدة . حيث أن نشاطات هذه الانزيمات تكون مهمة في نجاح عملية التخمر الصناعي ، بسبب كونها مترافقة مع مقدرة الاحياء المجهرية على مهاجمة وتكسير واستهلاك مكونات البيئة لاعطاء نواتج التخمر . وقد تفصل هذه الانزيمات لاستخدامها في عمليات صناعية أخرى ذات مردود اقتصادي كبير .

أذن نواتج التخمر قد تكون مكونات الخلايا الميكروبية أو الخلايا نفسها أو الانزيمات أو المواد الكيميائية الناتجة أو المتغيرة بواسطة الخلايا . والجدول (1.1) يبين النواتج المختلفة للنشاط الميكروبي والمهمة تجاريا . ولا يدرج هذا الجدول جميع النواتج ما دامت الاكتشافات من نواتج جديدة قائمة .

الجدول (1.1)

نواتج النشاط الميكروبي المهمة اقتصاديا

- 1- المضادات الحيوية : الستربتومايسين ، البنسلين ، التتراسيكلينات ، الاريترومايسين⁹ ، البولي مكسين ، الباستراسين والنخ .
- 2- المذيبات العضوية : الاستيون ، البيوتانول ، الايثانول ، الكحول الاميلي . الخ
- 3- النمازات : ثاني أوكسيد الكربون والهيدروجين .
- 4- المشروبات : النبيذ ، البيرة ، المشروبات المقطرة .
- 5- الاغذية : الاجبان ، اللبن المخمر ، المخللات ، سوركراوت ، صلصة الصويا ، الشميرة ، الخبز ، الخل ، المشروم « عيش الغراب » ،
الستريك .

- 6- مواد النكهة : جلوتامات الصوديوم الاحادية والنيوكليوتيدات •
- 7- الأحماض العضوية : اللاكتيك ، الغلتيك ، الستريك ، الجلوكونيك ، البيوتيريك ، الفيوماريك ، الايتاكونيك ، الكوجك • الخ •
- 8- الجليسرول •
- 9- الاحماض الامينية L — حامض الجلوتاميك L — لايسين •
- 10- الستيرويدات •
- 11- مدى وسع من المركبات المستخدمة كوسائط كيميائية من أجل تخليقات كيميائية أخرى لنواتج ذات قيمة اقتصادية •
- 12- خميرة الخباز •
- 13- الخمائر الغذائية والملفية •
- 14- لقاح البقول Legume ionculant •
- 15- مبيدات الحشرات البكتيرية ، مثل *Bacillus thuringiensis*
- 16- الفيتامينات ومحفزات النمو الأخرى : B₁₂ ، رايبوفلافين ، فيتامين A والجبريلينات •
- 17- الانزيمات : الاميليزات ، البروتيازات ، البكتينيزات ، الانفرتيز • الخ •
- 18- الدهون •

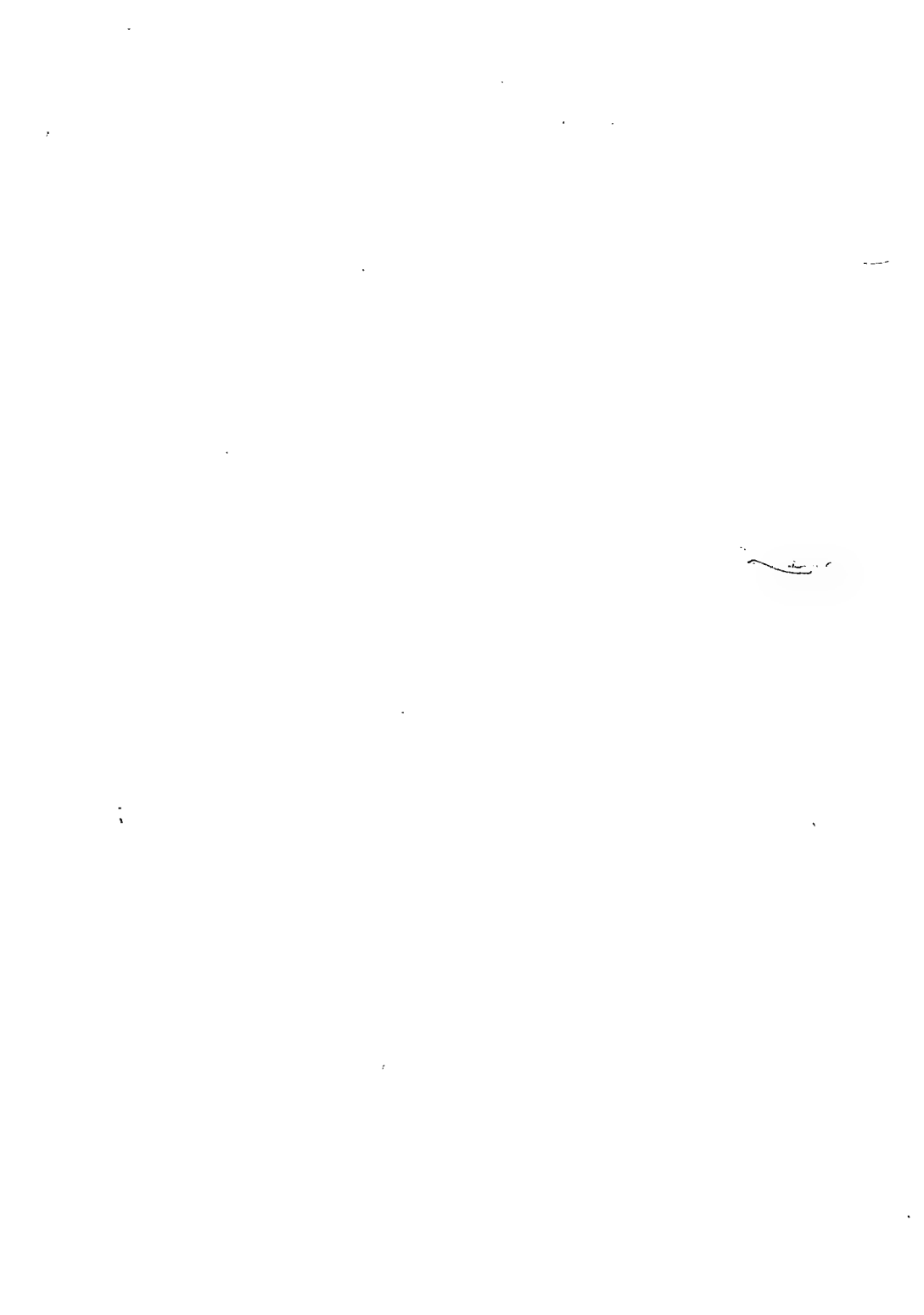
ولبراءات الاختراع أو الاكتشاف أهمية كبيرة للمختص في الميكروبيولوجي الصناعي إذ انها توفر درجة معينة من الحماية الاقتصادية للمكتشف « ومعاونه » لعمليات تخمر أو لنواتج جديد •

وفي هذا الكتاب سيعتبر الميكروبيولوجي الصناعي أساسا علميا وفنا للاكتشاف والتحكم بالتخميرات التقنية وذلك باستخدام الاحياء المجهرية لانتاج نواتج نهائية مرغوبة لها استخدامات صناعية وتطبيقية ممكنة ومعروفة جيدا • ومن الجلي ، ان الظروف التي يحدث فيها فقد بواسطة التلوث أو الاصابة الميكروبية تؤثر في عمليات التصنيع لذا يجب أن تدخل ضمن هذه المادة • على الرغم من أن كل التفاصيل الدقيقة لصناعات معينة لا يمكن ذكرها في هذا الكتاب ، فقد حاولنا عرض المبادئ والطرق العامة للتصنيع • ولزيد من التفاصيل عن الموضوعات المختلفة الهامة ، يمكن للطارء أن يرجع الى المصادر المدرجة في آخر كل باب من أبواب الكتاب •

الفصل الثاني

التطور التاريخي للتخميرات الصناعية

Historical Development of Industrial Fermentations



يعد علم الميكروبيولوجي الصناعي علما حديثا نسبيا كما هو الحال مع علم الاحياء المجهرية ، وقد يصل عمره الى 100 عام أو أكثر قليلا ، في حين يعود عمره كفن الى العصور القديمة . وفي وقتنا الحاضر لا يزال البعض من عمليات التخمر الصناعي يعد فنا أكثر من كونه علما . أن المفاهيم الأساسية للميكروبيولوجي الصناعي والمسحة الأكاديمية المرافقة لها يمكن تفهيمها بصورة أفضل فيما لو أخذنا في الاعتبار بعض جوانبه التاريخية ، لأن الأسلوب الصحيح والوحيد لاستقراء الحاضر والتنبؤ بالمستقبل هو مراجعة السابق .

وقبل أن نتقدم في الكلام ، من الضروري جدا تعريف اصطلاح « التخمر Fermentation » خاصة وأنه يستخدم بكثرة في هذا الفصل والفصول التالية . وقد اكتسبت هذه الكلمة مع مرور السنين معاني جديدة في حين تبقى محتفظة بالقديم . أساسا ، يشير الى التخمر بالفقاعات المتصاعدة عندما يتحول السكر والمواد النشوية لانتاج مشروبات كحولية . في حين يعد استخدام هذا الاصطلاح الى العملية التي يتكون فيها الكحول من السكر ، بصرف النظر عن كون العامل المسبب حياتي أم لا . وقد أشار باستور Pasteur الى أن اصطلاح التخمر يستخدم للدلالة على تلك التفاعلات اللاهوائية التي تحصل الاحياء المجهرية خلالها على الطاقة اللازمة لنموها في غياب الاوكسجين . واليوم ، فإن للتخمر معنى اوسع من ذلك بكثير ، فهو يستخدم لكلا نشاطات الاحياء المجهرية الهوائية واللاهوائية التي فيها تحدث تغيرات كيميائية معينة في المادة العضوية . وفي الحقيقة ، ومن وجهة نظر المايكروبيولوجي الصناعي لا يزال المعنى اوسع من ذلك ، اذ يتضمن تقريبا اي عملية تنوسطها أو تشترك فيها الاحياء المجهرية التي فيها يتراكم الناتج ذو القيمة الاقتصادية .

ومن الممكن تقسيم تاريخ التخمرات الصناعية « المايكروبيولوجي الصناعي » الى فترتين اساسيتين تتخللهما فترات متعددة .

الفترة الاساسية الاولى تبدأ من العصور القديمة وحتى عام 1860 ، أي فترة ما قبل باستور . خلال هذه الحقبة الزمنية الطويلة وقبل اكتشاف المجهز من قبل الهولندي انتوني فان ليفنهوك Antony Van Leewenhock في القرن السابع

عشر ، كانت التخمرات الصناعية معروفة على أنها فن وليس علما . إذ أن بعض العمليات التخمرية المتضمنة اشتراك الاسماء المجهرية كانت تجري وبصورة تكرارية إذا اتبعت الطرق والخطوات السليمة للتخمر . وكانت خبرة الانسان في مثل هذه التخمرات تعود الى المصور القديمة رغم افتقاره للمعلومات العلمية الاساسية من كيفية حدوث التخمر . فالتخمر الكحولي كان معروفا عند القدماء ، والتخمر الهوائي للفطر *Aspergillus oryzae* كان معروفا أيضا ، وشميرة الخبز كانت تصنع « لاهوايا » ومن ثم تباع . وكان مولد الغل تحت الاستخدام العام . وبعض الطرق مثل البسترة ، والتقليع وما يسمى بشبه التطهير كانت تمارس دون معرفة كنه هذه الطرق . كما لوحظ أن الهواء يعد ضروريا لبعض التخمرات . ومما يجدر مناقشته انه لا يمكن أن تعرف حقيقة التخمر ما دامت طبيعة العوامل المسببة للتخمر غير معروفة . وهذا يعد برهانا جيدا ، ولكن يجب أن نضع نصب أعيننا بأن كثيرا من الاعمال التي تؤديها الان لا تزال تؤدي بدون معرفة سبب ادائها وكيفية اجرائها .

وفي القرن السابع عشر كان انتوني فان ليفنهوك Antony Van Leewenhock اول من ذكر عن مشاهداته لكائنات صغيرة الحجم لا ترى بالعين المجردة ولا بد من استخدام وسائل تكبير لرؤيتها وجاء ذلك في رسائله الى الجمعية الملكية في لندن خلال اعوام 1677-1684 .

أما الفترة الاساسية الثانية فتبدأ من عام 1860 ، أي بعد اكتشافات باستور ، حيث كانت بداية علم الاحياء المجهرية . وكان التقرير الاول لباستور يدور حول تخمر حامض اللاكتيك وليس التخمر الكحولي ، حيث ذكر بأن هذا التخمر تسببه كائنات حية مجهرية كما قام بوصف مظهرها الميكروسكوبي . وكذلك استطاع باستور فصل البكتريا من بيئة التخمر بواسطة غسل الخلايا ، ولكنه لم يكن قادرا على الحصول على الخلايا في مزرعة نقية ، لانه في ذلك الوقت لم تكن تعرف بعد المزارع النقية للاحياء المجهرية . واستطاع باستور تنمية الخميرة في بيئة مخلقة وبرهن على أن تخمر السكر يلزمه تزايد في عدد خلايا الخميرة ، وبمباراة أخرى فإن نظرية التوالد الذاتي لا تفسر وجود التخمر في هذه البيئة . وقد ذكر باستور في أحد تقاريره عام 1861 أن سبب وجود عدد من المركبات

في تخمر حامض اللاكتيك قد يعود الى وجود عدد من الكائنات العنيدة في وسط النمو .

وقد دحض باستور عام 1861 نظرية التوالد الذاتي Spontaneous

Generation عند اوضح ما يسمى بتأثير باستور "Pasteur effect"

وهي الظاهرة التي فيها يختلف نمو وفسيلوجية الخميرة « أو أي كائن حي مجهري » سواء كانت نامية تحت ظروف هوائية أو لا هوائية . اذ لاحظ باستور أنه في الظروف اللاهوائية حدث نمو قليل نسبيا وأن كمية كبيرة من السكر تحولت الى كحول ، وقال أن سبب ذلك يعود الى أن الخميرة تحصل على الاوكسجين اللازم لها من جزئية السكر . وتحت الظروف الهوائية فإن السكر يكون أقل تهديا في حين يتحول الجزء الاعظم منه الى مواد خلوية . وأن وجود الهواء يؤدي الى تكوين كمية قليلة من الكحول لان الهواء يشبط التكسير التخمرى للسكر . وفيما بعد اوضح باستور بأن التخمرات المتميزة بتكوين منتجات معينة « مثل حامض الخليك ، والكحول ، وحامض البيوتيريك ، وحامض اللاكتيك » تعتمد على أنواع مختلفة من الاحياء المجهرية وأن التلوث بالميكروبات غيبس المرغوبة تسبب في تخمرات رديئة . وقد أثبت ليستر Lister عام 1878 أول طريقة للحصول على مزارع نقية من الاحياء المجهرية وذلك باستخدام طريقة التخفيف المتتالي لتقليل فرصة تواجد الاحياء المجهرية الملوثة ومن ثم استخدام طريقة المد الميكروسكوبي لتعديد مدى التخفيف اللازم لاختفاء الملوثة ولتعديد مقدار التخفيف الذي يمكن أن يبقى عنده الكائن الحي الرئيس مشاهدا في التحضيرات الميكروسكوبية ، ومن ثم فصل الكائن الحي المجهرى في مزرعة نقية . وفي يومنا هذا ، تعد هذه الطريقة الاساس في تقدير اعداد الاحياء المجهرية بواسطة طريقة المد الاحتمالي ، ولا تزال في بعض الاحيان مستخدمة لنزل الاحياء المجهرية . وفي عام 1897 أثبت أخوان بخنر وهان Buchner brothers & Hahn بأن السكريات يمكنها أن تتخمر بغياب خلايا الخميرة بواسطة مستخلص الخلايا الذي يحتوي على مواد تقوم بعملية التحويل هذه . وقد كان هذا الاكتشافى الولادة الفعلية لملم الكيمياء الحيوية بعد نصف قرن من الابحاث حول طبيعة التفاعلات الكيميائية .

وتم بين عام 1860 و 1900 اخضاع تخمر آخر ، حامض اللاكتيك ، الى الممارسة الصناعية . كما تطورت طريقة اضافية اخرى وهي استعمال التهوية في سوائل المخمرات ، اذ لاحظ الماملون ان الخميرة تنمو بصورة افضل عند تهوية البيئة .

وخلال العشرين سنة التالية أي من 1900 الى 1920 كان هناك نشاط اكبر عائد بسورة جزئية على الاقل الى الحرب العالمية الاولى . فقد تم انتاج تخميري للجليسرول ، والاستيون والبيوتانول وكذلك للانزيمات البكتيرية والفطرية . وتم عمل حوض ايمهوف Imhoff tank للهضم اللاهوائي لمياه المجاري ، وكذلك اكتشفت عملية الوحل المنشط لمعاملة مياه المجاري هوائيا . وخلال هذه الفترة اكتشفت طريقة الانتاج الهوائي للخميرة بواسطة الاضافة المستمرة للسكر التي يعتقد أنها فترة ولادة الصناعة التخميرية .

خلال العشرين سنة التالية ، من 1920 الى 1940 عرف عدد قليل من التخميرات واكتشف عدد قليل من الطرق . ومن التخميرات الرئيسة الجديدة هي انتاج السوربوز Sorbose وانتاج حامض الجلوكونيك . وبطبيعة الحال كانت هناك تحسينات عديدة للتخميرات القديمة . كما تم اكتشاف طريقتين جديدتين مهمتين وهما استخدام المخمر المهتز والمهوى Agitated and aerated fermentor وتعقيم الهواء بواسطة المرشحات الليفية . ويبدو أن صناعة التخمير قد وصلت الى مرحلة الاستقرار بحيث لا تستطيع ان تنمو بصورة اسرع من اقتصادياتها .

بعد ذلك من عام 1940 الى 1950 انفجرت الصناعة التخميرية ، ويعزى ذلك الى اكتشاف البنسلين ، الذي شجع على اكتشاف مضادات حيوية أخرى ، محدثا قفزة نوعية في العلاج الطبي . فقد اكتشف الكسندر فلمنج Alexander Fleming عام 1928 البنسلين من الفطريات ولكن لم يستخدم في العلاج الا اثناء الحرب العالمية الثانية عام (1941) .

هذا الاكتشاف شجع باحثين آخرين للبحث عن احياء مجهرية أخرى يمكنها تخليق مضادات حيوية أخرى . ونتيجة للبحث المكثف خلال الحرب العالمية الثانية وبمدها تم اكتشاف الستريتومايسين ، والكلورو امفنيكول والتترايسيكليينات

وسلسلة من المضادات الحيوية ذات الاهمية الاقتصادية والطبية الكبيرة .

لم يكن هذا الوضع يمثل هذه البساطة ، فهل كان الانتاج التخري للرايوفلافين وفيتامين B₁₂ الذي تطور خلال نفس الفترة هو نتيجة اكتشاف البنسلين ؟

يشك معظم الباحثين في ذلك ، ويعتقدون ان السبب يكمن في الاتي :-

(1) ادخال الاوعية الهواة والمرجوة كمخمرات هوائية :

(2) تمقيم الهواء بامراره خلال المرشحات اللبفية .

(3) اكتشاف طريقة الدورق المرجوج Shake flask كوسيلة مختبرية هوائية ،

مكنت الباحثين من استغلال المشاهدات التي لم يسبق استغلالها . هذه المشاهدة تكمن في أن بعض الاحياء المجهرية عندما تنمو هوائيا تكون كميات كبيرة من الرايوفلافين يمكن استغلالها بسهولة اذا توفرت الدوايق المرجوجة للعمل المختبري وتوفرت مخمرات جيدة لعملية الانتاج .

وخلال الفترة من عام 1950 الى 1980 تطورت تخمرات جديدة من ضمنها انتاج الاحماض الامينية ، والستيرويدات ، وبعض المضادات الحيوية الجديدة والجبريلينات .

وتعد طريقة استخدام طفرات مموجة أيضا Metabolically blocked

mutants من الطرق الحديثة نسبيا ولكنها ذات أهمية بالغة جدا ، حيث ساهمت دراسة هذه الاحياء في زيادة معرفتنا لوراثة الاحياء المجهرية ، كما وفرت وسائل لتوجيه الاحياء المجهرية نحو تكوين كميات كبيرة من المواد الايضية الوسطية التي عادة ، وبسبب تواجدتها الانتقالي في المسارات الايضية ، لا تتراكم لاي مدى في المزارع الميكروبية الاعتيادية .

ومنذ عام 1980 لم يحدث أي تطور هام في التخمرات الجديدة ما هذا انتاج

النيوكليوتيدات لاستخدامها مواد منكهة في الاغذية .

واذا حاولنا التفكير في الطرق الجديدة المكتشفة منذ عام 1950 ، يمكن أن

نستخلص أن التقدم الرئيس حصل في أجهزة القياس والتحكم بالتخمرات ، أي

قياس ال pH والتحكم به والسيطرة على الرغوة وإيجاد طرق للتحليل الكيميائي
الالي والتحليل الكروماتوجرافي للغازات الناتجة وما شابه ذلك .

ومنذ عام 1950 نلاحظ أن هناك تباطؤا في معدل اكتشاف طرق وتخمرات
جديدة . وإذا استعلمنا استقرار الميول الحالية ، ينبغي أن نخلص الى القول من أن
الصناعة التخمرية ستبقى متواجدة ، ولكنها ستصل الى وضع معين مشابه لظروفها
خلال الحقبة السابقة أي خلال ال 5000 سنة الماضية .

من هذا السياق التاريخي المختصر ، يبدو لنا أن عددا من الباحثين الاوائل
لم يعمل لحل المشكلة او لتفسير نتائجهم في صورة تطبيقات في الميكروبيولوجي
الصناعي بعد ذاته . ولكن من الواضح أن العديد من هذه الدراسات قدم الكثير
للتقنية وللميكروبيولوجي الصناعي الحديث بالاضافة الى التقنية التي كانت موجودة
في أزمنة أجراء هذه الابحاث ، كما نشاهد ان العديد من الطرق والمفاهيم التي تم
تطويرها لا تزال صالحة ليومنا هذا .

الفصل الثالث

أجهزة ومعدات التخمير

Fermentation Apparatus and Equipments

1. المكونات الأساسية لوحدة التخمير
2. حجم المخمرات
3. تصميم المخمر
4. المخمرات المستعملة في التخميرات الجراثيمية .
5. المخمرات المستعملة في التخميرات اللاهوائية .

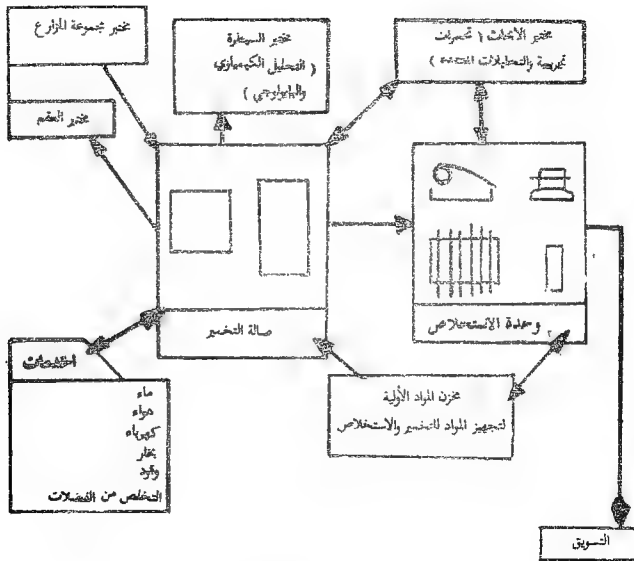
Essential Features of a Fermentation Unit

غالباً ما يتطلب استخدام الاحياء المجهرية صناعياً تنميتها في أوعية كبيرة تحتوي على كميات مناسبة من الاوساط الغذائية . وعادة قدهي هذه الاوساط في بالمخمرات Fermentors والتي قد تكون باللفة المتعقد في تصميمها ، ومجهزة دائماً بوسائل التحكم ومراقبة الواجهة المتعددة لنمو الاحياء المجهرية ونواتج تخليقاتها الحيوية .

وقبل دراسة التطورات التفصيلية لعملية التخمير أو ميكانيكيته ، ينبغي التعرف على تصميم وعمل المخمرات والمعدات المساعدة والمعلقة بها وكذلك التحديدات التي تفرضها هذه المخمرات على الطرق التي يمكن بواسطتها حصاد الاحياء المجهرية على النطاق الصناعي .

ان وحدة التخمير في التخميرات الصناعية تكون مشابهة للمصنع الكيميائي في الصناعة الكيميائية . ويعود وجود الاختلافات الى احتياجات العملية الحيوية للتحقيق وضمان سير تفاعلاتها الانزيمية مقارنة بالتفاعلات الكيميائية وهياملها المساعدة والتي تجري أحياناً عند درجات حرارة وضغط مرتفعين .

وبصورة عامة تكون اساسيات التصميم قابلة للتطبيق بصرف النظر عن حجم العملية التخميرية . والوصف الذي سنذكره في هذا الفصل يتعلق بوحدة تخمير مناسبة لوحدة تجريبية صغيرة النطاق ، أو بمصنع صغير يوفر كميات تجارية من المواد الايضية ، أو بمصنع انتاجي كبير ، والفصل 2.3 يوضح رسماً تخطيطياً عاماً لوحدة تخمير .



النموذج (ك) رسم تخطيطي لوحدة تخمير

وقد صممت المصنرات الصناعية لتجني أفضل ظروف نمو وتطبيق للمزارع الميكروبية المهمة صناعيا ، ولتسمح بالمعالجة السهلة لجميع العمليات الصناعية لاستخدام المخمرات ...

ومن أهم الشروط الواجب توافرها في مرافقها هي المصنرات الصناعية هي :
 1- يجب أن تكون أجهزة التخمير قوية البنية ، تكفي لتعمل بحدود الأحجام الكبيرة من البيئة المسالة ، إذ إنارة إلى كونها ، تدفئة عن مواد مخمرة للتحلل بفعل تواتج التخمير ولا تساهم بأية أبوات متانة لوحدة في بيئة التخمير .
 2- نظرا لكون معظم المصنرات الصناعية " تستخدم بمرارح ميكروبية نقية ، يجب أن يكون للمصنرات بعض الاحتياطات في تصميمها لتجنب التلوث في نموها .
 3- الأحجام الكبيرة المبردة أو الجافة .

3. في الخميرات الهوائية ، يجب أن يكون هناك احتياطي أو استعداد مسبق للدخال السريع لهواء مهم إلى البيئة بطريقة ما بحيث يتنوب اوكسجين هذا الهواء في البيئة ، وبالتالي يكون متاحا بسهولة للاحياء المجهرية وكذلك يصبح ثاني اوكسيد الكربون الناتج من العمليات الايضية لهذه الاحياء microbial metabolism سهل الابداد من البيئة .

4. يجب أن يتوفر في هذه الخميرات نوع معين من التقلب أو التحريك ، خصوصا عند انعدام تكون فقاعات غازية خلال النمو الميكروبي ، لمزج الاحياء المجهرية في البيئة وجعل لملوّد المغذية والاكسجين أكثر تيسرا للكائن الحي المجهرى بعد ذاته .

5. يجب أن يوفر المخمر إضافة متقطعة من المواد المانعة للرغوة antifoam agents كلما دعت الحاجة الي ذلك

6. يجب توفر نوع معين من التحكم الحراري وذلك للحفاظ على درجة حرارة ثابتة ومقدرة سلفا في المخمر أثناء نمو الكائن الحي المجهرى .

7. يجب أن يوفر المخمر وسائل مناسبة لدخال اللقاح في بداية العملية ولسحب عينات مزرعية خلال عملية التخمر .

8. غالبا ما يحتاج المخمر الى ميكانيكية معينة للكشف عن قيم pH بيئة النمو ولتثبيتها خلال عملية النمو ، حتى ولو كانت هذه تتضمن سحب عينة من المخمر لتقدير الـ pH تتبعه إضافة القلوي أو الحامض الى بيئة التخمر .

9. وبالإضافة الى المخمر ، يجب توفر احراز لقاح إضافية ، وهي في الواقع مخمرات أصغر حجما ينتج فيها اللقاح الذي سيضاف مباشرة الى المخمر بدون استخدام انابيب كثيرة وذلك لتلافي مشاكل التلوث التي قد ترافق استخدام مثل هذه الانابيب .

10. قد يستدعي الامر وجود أوعية أخرى لمزج مكونات البيئة والماء عند تحضير الوجبات الكبيرة من البيئة لإضافتها الى مخمرات الانتاج .

11. يجب توفر وسائل معينة لتقييم بيئة الانتاج وكذلك المواد المانعة للرغوة .

12. وفي العديد من الخميرات ، يجب توفر مرشحات هوائية أو وسائل عميق معينة لمنع وصول شوائب الهواء العالي فيون كالك دخوله الى المخمر .

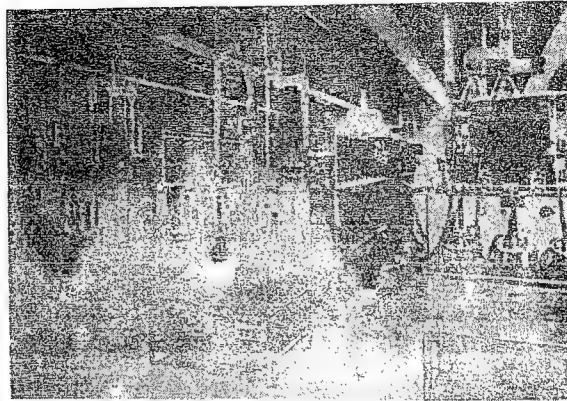
13 . يجب أن تكون هناك فتحة تصريف في قاع المخمر أو ميكانيكية معينة لازالة البيئة السائلة من العوض بعد انتهاء التخمير وذلك لغرض التنظيف الجيد بين وجبات التخمير المتعاقبة .

3. حجم المخمرات Size of Fermentors

ترجع المخمرات بأحجام متفاوتة ، وعادة تحسب هذه الاحجام على اساس النسبة الحجمية الكلية للخمير ، بينما يتزن حجم التشغيل الفعلي للمخمر اقل من الحجم الظاهري ، وذلك بسبب الفراغ الراسي Head Space الذي يجب تركه في قمة المخمر أي أعلى البنية السائلة لأجل السماح لفرق Splashing وارتفاع foaming وقرينة الخلط . ويوصل الفراغ الراسي حجما يعادل حوالي خمس الى ربع حجم المخمر أو أكثر .

والمخمرات الحديثة الصغيرة كما هي مبيحة في الشكل (2.3) لها حجم كلي يتراوح بين 2-1 لتر من البيئة وبعد أقصى قدره 12-15 لترا تقريبا (الشكل 2.3) .

أما مخمرات المصانع والتي تستخدم مع عراصات تقميرية ذات نطاق أوسع ، فغالبا ما يتراوح حجمها بين 4-6 مكوكولتر ولغاية حجم كلي قدره 75 مكوكولتر ، كما مبين في الشكل (4.3) .

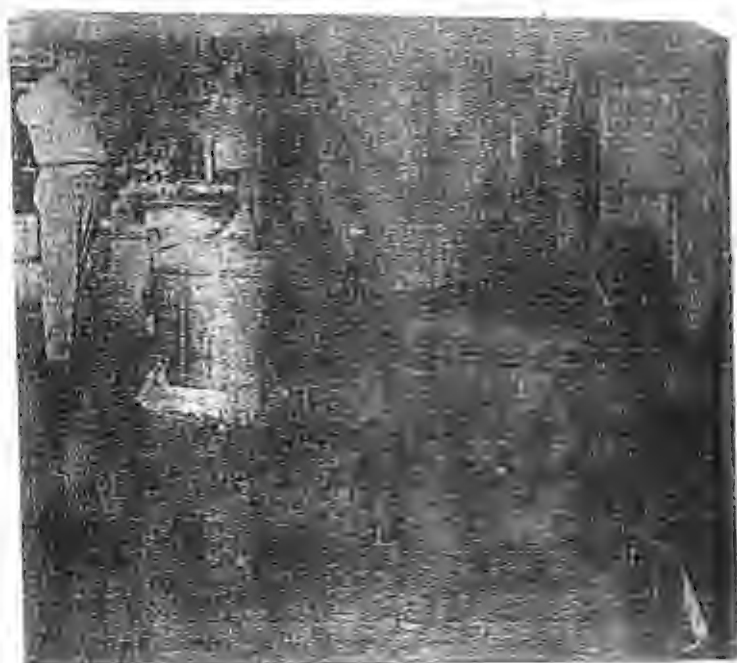


الشكل (2.3) مخمرات مخبرية صغيرة

المخمرات الحديثة والصغيرة ذات البنية السائلة



الشكل (3.3) مشرّع عظيم للدراسات البحثية



في دراسات اختيار التغيرات (المصدر)

بهذا المخبرات الكبيرة والمستخدمة في الانتاج الصناعي لتوانج التخمير أو
 الغلايا الميكروبية فان حجمها يتراوح بين 200-400 مكولتر والى حوالي
 4000 مكولتر ، كما هو مبين في الاشكال (5.3) و (6.3) و (7.3) .



الشكل (5.3) مفاعل الانتاج الصناعي الكبيرة

ونلاحظ ما تستخدم مخبرات ذات احجام اكبر من الاحجام المذكورة سابقا وتكون
 كروية الشكل وبسعة كلية تتراوح بين 10,000 الى 20,000 مكولتر .

وبالنسبة الى المخبرات التجريبية الصغيرة الحجم فانها تستخدم في مجاميع
 مؤلفة من اثنين أو ثلاث أو أكثر من المخبرات بحيث تسمح بحركة هائلة في
 ابحاث تطوير عمليات التخمير . وبالتالي فان عددا من المختبرات التجريبية ويتمكن
 دقيق يمكن اختباره واحدا بعد الآخر في مثل هذه المخبرات الصغيرة . وبالأخص



۱۰۰۰ نفر از مردم، ۱۰۰۰ نفر از مردم
 و ۱۰۰۰ نفر از مردم

الى ذلك فأن ظروف التخمر المثلى المقدرة بهذه المخمرات غالبا ما تكون قابلة للتطبيق في التخمرات الكبرى وباستخدام أحواض تخمير أكبر . وقد تستخدم المخمرات الصغيرة في تحضير اللقاحات أو البادئات لتلقيح الأحواض الأكبر حجما .

وإذا افترضنا انه يستلزم حجم من اللقاح قدره 1-5% لاغلب التخمرات ، لذا ينبغي اختيار أحواض تخمير ذات أحجام ملائمة لتكوين كمية كافية من اللقاح لتلقيح الأحواض الكبيرة جدا ذات سعة 4,000 هكتولتر . ومع ذلك يجب أن نتذكر بأن هناك اختلافا بين السعة الكلية للمخمر Total Fermentor Capacity وبين حجم التشغيل Working volume ، أي الذي تشغله البيئة فعلا ، . ويوضح الشكل (8.3) والشكل (9.3) بمض المخمرات المختبرية وأحجامها التشغيلية .

وتكون المخمرات المختبرية الصغيرة مصممة بحيث تمتلك مرونة كبيرة في توفير ظروف مختلفة لنمو الأحياء المجهرية . وبنفس الوقت ، فإنه يمكن تثبيتها لتوفير ظروف نمو ميكروبية مشابهة لتلك الموجودة في أكبر أحواض التخمر الصناعية . وهكذا فإن المخمرات سواء كانت كبيرة أو صغيرة فإنها تكون متشابهة نوعا ما من ناحية تصميمها الميكانيكي .

3 . تصميم المخمر Fermentor Design

ان وظيفة المخمر هي تجهيز ظروف بيئية مثلى لكل عملية بايولوجية معينة . وهناك نوعان من المخمرات : هوائية ولا هوائية ، ويتم تقدير وتحديد الاختلافات في تصميم هذين النوعين بواسطة كميات التهوية والتحرك المطلوبة .

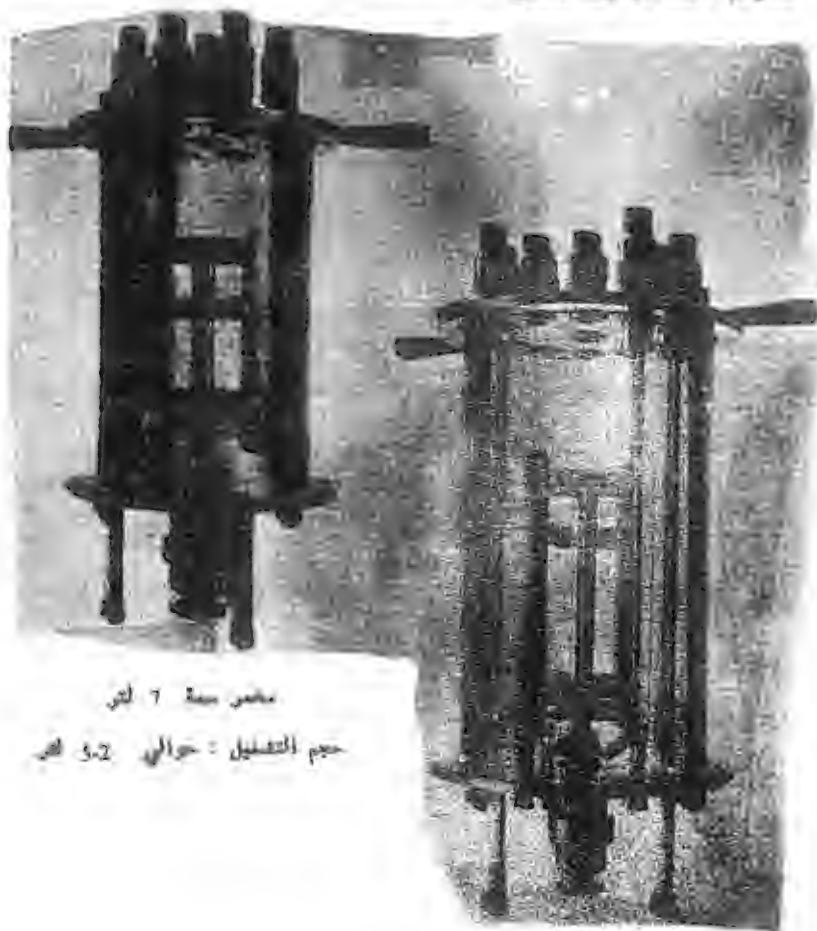
1.3 المخمرات المستخدمة في التخمرات الهوائية :

Fermentors for aerobic Fermentations

هذا النوع من المخمرات كما هو مبين في الشكل (10.3) عبارة عن وعاء مغلق يمكن تمقيمه وتهويته وتحيكه كما يتم التحكم بدرجة حرارة محتوياته بدقة عالية جدا .

وعادة يكون شكل المخمر اسطوانيا ذا قاعدة مستديرة ومدخل يضمن سهولة عملية التنظيف وبارتفاع يتفاوت بين 50-100% أكبر من قطره . ويتحرك محور ادارة المحرك خلال مركز المخمر ويحمل دوارا أو أكثر حسب طول المخمر وشدة

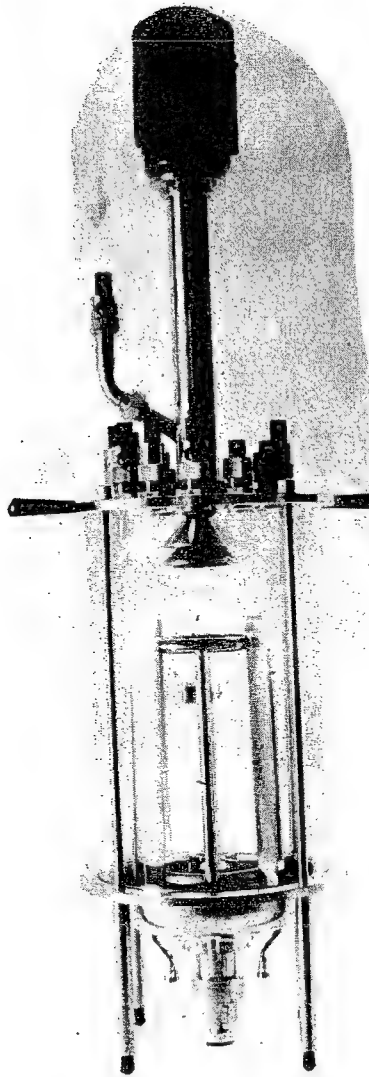
المحرك المطلوب - ونقسم محور المحرك والمحرك بسعة 0.25 قوة حصانية لكل
مكروتر واحد من بيعة التغير .



محور بسعة 7 لتر
حجم التشغيل : حوالي 3.2 لتر

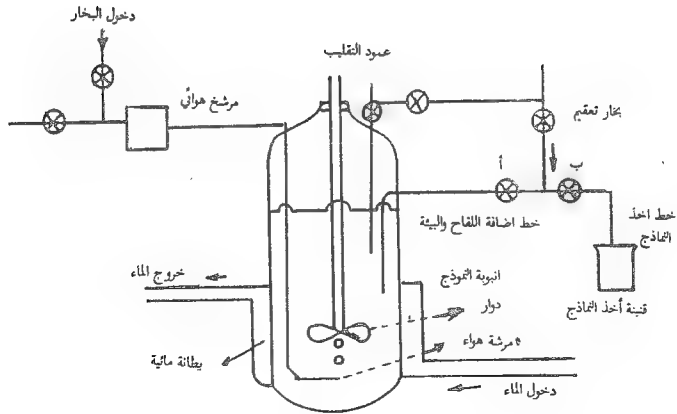
محور بسعة 14 لتر
حجم التشغيل : 10-5 لتر تقريبا

الشكل (8.3) • منحصرات مشعبوية حديدية ذات أحجام تشغيل مختلفة



الشكل (9.3) • مغمر مختبري حيث سعة 20 لترا وحجم تشغيل

• 15-8 لترا تقريبا



الشكل (10.3) تصميم المخمر

في حين يصمم نظام التبريد لازالة كل من الحرارة المتولدة نتيجة للتحريك والحرارة المتولدة من العمليات الايضية للمزرعة الميكروبية ، والمحافظة على درجة حرارة مثلى في سائل التخمر التي تعتمد على نوع الاحياء المجهرية المستخدمة والغرض من استخدامها لاعطاء منتوج التخمر المرغوب . ويمر هواء معقم بواسطة الترشيح خلال صمام ذو اتجاه واحد بمعدل أقصى مكافئ لحجم واحد من البيئة في الدقيقة الواحدة . ويدخل الهواء الى سائل التخمر بواسطة مرشة هواء air sparger موجودة في قاع المخمر حيث يكون موقعها تحت اواماً دوار تماماً . ان تصميم مرشة الهواء يجمع بين وجود فتحات رش ليست واسعة جداً بحيث تقلل من معدل صريان الهواء ولا صغيرة جداً بحيث تؤدي الى انسداد منافذ الهواء بواسطة دقائق البيئة . وأخيراً ينفث الهواء الى الجو الخارجي خلال انبوب طويل يتم تعقيمه دورياً . ويتم تقليل تلوث المخمرات الاخرى بواسطة الهواء المستهلك والمستنفذ الى الحد الأدنى وذلك بنفثه باتجاه الريح .

في بعض العمليات الصناعية يتضمن أنبوب الهواء المنفوث مزجعا بكتيريا وذلك لمنع انتقال الاحياء المجهرية من الخمر الى الهواء .

وقد تحدث رغاوي في بيئة التخمر السائلة وعلى فترات ، لذلك يتمكن القائم بالتشغيل من التحكم بها بأضافة زيوت مانعة الرغاوي بحيث لا يحصل فقد في سائل البيئة بسببها .

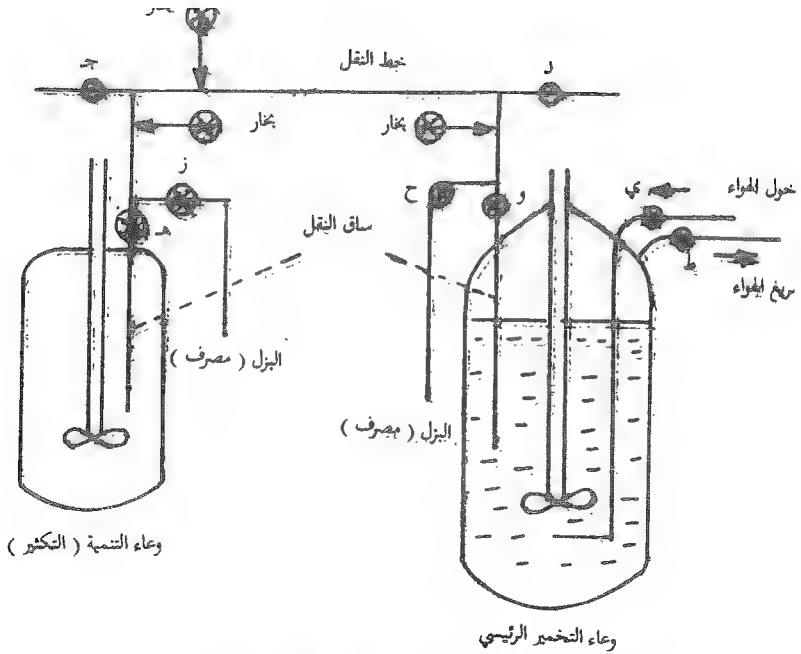
وتمتد أنبوبة العينة ، المغلقة بواسطة صمامين خارجيين (أ) و (ب) على التسلسل ، الى السائل المتحرك بشدة وذلك للسماح بأخذ عينات من البيئة . وهناك خط بخار تحت ضغط يتصل بين هذين الصمامين ، بحيث يستخدم في هذا القطاع من الانبوب بخار تعقيم steam seal وذلك لتمكن من تعقيمه بعد كل عملية سحب عينة ، كما يوفر عائق حراري حيال دخول الاحياء المجهرية الملوثة .

ويستخدم نفس الاساس في تعقيم مواضع الاتصال بالتخمر من أجل أضافة المواد الغذائية ، واللقاح ، ومواد مانعة الرغاوي أو لنقل البيئة من وعاء الى آخر .

وينقل اللقاح المحضر بالطرق التي ستذكر في الفصول القادمة الى مخمر صغير تبلغ سعة الحجمية حوالي 10% من سعة المخمر الرئيسي وله ١٠ لترات الاساس التصميمي العام للمخمر الكبير الذي سبق وصفه . وعندما تتكون الكمية المرغوبة من الخلايا الميكروبية أو المايسيليوم ، فإن نحوى مخمر اللقاح ينقل الى المخمر الرئيس بواسطة ضغط الهواء خلال انابيب نقل معقمة بحيث تتم العملية بأمر وقت ممكن لتقليل التأثير الضار للتهوية .

ويعاثر النقل المعقم بالطريقة المشار اليها في الشكل (11.3) .

اذ تطلق الصمامات (ج) و(د) و(هـ) و(و) المتصلة بوعائي تنمية اللقاح والتخمر ، ويسمح للبخار بالدخول الى أنبوب النقل ويمر الى فتحات التصريف خلال الصمامين (ز) و (ح) المفترحين جزئيا . ويحافظ على الضغط عند 1.1 كغم/سم² لمدة 30 دقيقة وبذلك يتم تعقيم أنبوب النقل . بعد ذلك يرفع الضغط في وعاء التخمر بواسطة غلق صمام نافث الهواء (ط) . وعندما يوقف امداد البخار يفلق الصمامان (ز) و (ح) وينتج الصمامان (هـ) و (و) وتدفع البيئة المعقمة الباردة خلال أنبوب النقل الى وعاء تنمية اللقاح وبانتهاء ذلك يفلق الصمامان (هـ) و (و) .



المخطط 11.3 تصميم تخطيطي للنقل المقسم بين المخبزات

وتؤدي هذه العملية الى تبريد انبوب النقل وتفرغاته . بعد ذلك يتفقد الضغط في وعاء التخمير بواسطة فتح آني مسيطر عليه لصمام دخول الهواء (ي) وصمام البنفث (د) ، وبذلك يتم رفع الضغط في وعاء تنمية اللقاح بالطريقة الاعتيادية . ومن ثم يفتح الصمامان (هـ) و (و) للسماح للمحتوي الكلي لوعاء تنمية اللقاح ان ينقل الى وعاء التخمير ، ويغلق الصمام (و) . واخيرا يعقم انبوب النقل ثانية بواسطة البخار بحيث يكون جاهزا لعملية نقل اخرى .

2.3 المخمرات المستخدمة في التخميرات اللاهوائية

fermentors for anaerobic fermentations

من الناحية الاساسية يكون تصميم المخمر لتشغيله تحت الظروف المتسببة بقلّة الهواء micro aerophilic أو اللاهوائية هو نفس تصميم المخمر اللازم

للتشغيل تحت الظروف الهوائية ، ما عدا بعض الاختلافات التصميمية كالتقليب والتهوية ، أي أن هذه المخمرات لا تستخدم أداة تقليب . ولكن بعض التخمرات اللاهوائية تحتاج الى تقليب أولي للقاح خلال بيئة التخمر في حين لا تحتاج الى تقليب اضافي لان الغازات المتصاعدة من التخمر تقوم بأحداث هذا التقليب .

وتكون الحاجة الى الهواء في بداية التخمر فقط وذلك لتكوين مجموع خلوي كبير قبل أن تصبح الظروف لاهوائية . وفي الحقيقة أن عدم اضافة الهواء الى المخمر لا يعني بالضرورة توفير ظروف لا هوائية للتخمر ، لوجود كمية من الاوكسجين في الفراغ الراسي أعلى بيئة التخمر . وبعض الاحياء المجهرية ، مثل بعض البكتيريا المنتجة لحمض اللاكتيك تكون محبة لظروف قليلة الهواء microaerophilic وتستطيع تحمل كميات قليلة من الاوكسجين حتى ولو كان التخمر في الاساس لا هوائيا . في حين أن أحياء مجهرية أخرى ، مثل أعضاء جنس Clostridium وهي لاهوائيات اجبارية لا يمكنها تحمل وجود الاوكسجين .

مثل هذه الاحياء يمكنها أن تنمو ينجح في مخمر بدون أي تغيرات كبيرة في تصميمه أو استخدام أجهزة غالية لازالة الاوكسجين من الجو وخاصة عند اتخاذ الاحتياطات المناسبة . وفي مثل هذه الحالات تستخدم بيئة جيلاتينية سميكة يمكنها احاقه تغلف الاوكسجين . اذ تعمق البيئة مباشرة قبل التلقيح بحيث تؤدي الى طرد الاوكسجين ومن ثم يضاف اللقاح من أسفل المخمر مباشرة عند تبريد البيئة الى درجة الحرارة الملائمة للتخمر وقبل أن يكون للاوكسجين فرصة التغلغل الى البيئة . في تخمر من هذا النوع ، فإن غازي ثاني اوكسيد الكربون والهيدروجين يتحرران بتقدم وازدياد شدة التخمر ، وبذلك يطرد الاوكسجين من جو الفراغ الراسي للمخمر . ولغازات التخمر قيمة اقتصادية كبيرة لذلك يجب أن يكون هناك استعداد مسبق لجمعها حال انبعاثها من مخمرات الانتاج .

وكما ذكرنا فإن العديد من التخمرات اللاهوائية تحتاج الى تهوية مبدئية في طور النمو ، مثال : الديكستران ، الكحول ، 3,2 - بيوتيلين جلايكول ، في حين تحتاج الى ظروف قليلة الهواء أو معدومة في الجزء الاخير أو الجزء الانتاجي من عملية التخمر . ونادرا ما توجد عمليات ميكروبيولوجية لاهوائية تماما في الصناعة ، وتخمر بكتيريا التيتانوس « الكزاز » هو مثال على ذلك .

مراجع الباب الأول

- Aiba, S., Humphrey, A.E., and Millis, N.F. (1965) - Biochemical engineering. Academic Press, New York.
- Blakebrough, N. (1967)-Biochemical and biological engineering science science, Vol. 1. Academic Press, London.
- Casida, L.E., Jr, (1968) - Industrial microbiology. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Demain, A.L. (1981) - Industrial microbiology, Science, 214, 987-995.
- Hockenhull, D.J.D. (1975) - The fermentor pilot plant and its aims. Adv. Appl. Microbiol., 19, 187-208.
- Johnson, M.J. (1971) - Fermentation - yesterday and tomorrow. Chem. Tech. 1, 338-341.
- Miller, B.M., and Litsky, W. (1976) - Industrial microbiology, 3rd ed. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York.
- Perlman, D. (1974) - Prospects for the fermentation industries, 1974-1983. Chem. Tech. 4 (4): 210-216.
- Prescott, S.C. and Dunn, C.G. (1959) - Industrial microbiology, 3rd ed. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York.
- Rhodes, A., and Fletcher, D.L. (1966) - Principles of industrial microbiology, 1st ed. Pergamon Press, Oxford.
- Rose, A.H. (1961) - Industrial microbiology. Butterworths, London.
- Solomons, G.L. (1969) - Materials and methods in fermentation. Academic Press, New York.
- Solomons, G.L. (1971) - Fermentation equipment. Adv. Appl. Microbiol., 14, 231-247.

- Steel, R., and Miller, T.L. (1970) - Fermentor design. *Adv. Appl. Microbiol.*, 12, 153-188.
- Thoma, R.W. (1977) - *Industrial microbiology*. Dowden, Hutchinson & Ross, Inc., Stroudsburg, Pennsylvania.
- Underkofler, L.A., and Hickey, R.J. (1954) - *Industrial fermentations*. Chemical Publishing Co., Inc., New York.
- Wilkinson, J.F., and Rose, A.H. (1963) - Fermentation processes. pp. 395-397. In «*Biochemistry of industrial microorganisms*». (C. B. Cow and A.H. Rose, eds). Academic Press, New York.

PART 2

الباب الثاني

**الاسس التي تعتمد عليها عمليات
التخمير الصناعي**

**BASIS OF INDUSTRIAL
FERMENTATION PROCESSES**

الفصل الأول

فكرة عامة عن الاحياء المجهرية وصفاتها

General Consideration on Microorganisms and Their Characteristics

1. مقدمة
2. تقسيم الاحياء المجهرية
3. الفطريات
- 1.3. تقسيم الفطريات والتعرف عليها
- 2.3. الصفات العامة للاعفان
- 3.3. الاعفان المهمة صناعيا
4. الخمائر والفطريات الشبيهة بالخمائر
- 1.4. تقسيم الخمائر والتعرف عليها
- 2.4. الصفات العامة للخمائر
5. البكتيريا
- 1.5. الصفات المورفولوجية
- 2.5. الصفات الفسيولوجية
- 3.5. تكاثر البكتيريا
- 4.5. تقسيم البكتيريا
- 5.5. المجموعات البكتيرية المهمة في ميكروبيولوجي الاغذية والميكروبيولوجي
6. الطحالب
- 1.6. الصفات العامة للطحالب
- 2.6. تقسيم الطحالب

1. مقدمة Introduction

ان دراسة الاحياء المجهرية كعلم تتضمن دراسة نشاطاتها المختلفة ، ويبحث علم الميكروبيولوجي في صور وتركيب وتكاثر وفسلجة وأيض الاحياء المجهرية والتعرف عليها . كما يتضمن أيضا دراسة انتشارها في الطبيعة وعلاقتها ببعضها ببعض وبالاحياء الاخرى فضلا عن تأثيراتها المفيدة والضارة في الانسان والتغيرات الفيزيائية والكيميائية التي تحدثها في بيئاتها .

وتوجد الاحياء المجهرية في كل مكان في الطبيعة ، فهي تحمل بواسطة تيارات الهواء من سطح الارض الى الاجواء العليا . وقد وجدت في رواسب باطن المحيطات رغم اعماقها السحيقة ، وكذلك في التربة الارضية . وتنقل الاحياء المجهرية بواسطة الجداول والانهار الى البحيرات والاجسام المائية الكبيرة ، واذا أفرغت فضلات الانسان المحتوية على البكتيريا الضارة في الجداول فقد تنتشر الامراض من مكان الى آخر . وتوجد الاحياء المجهرية بوفرة اينما وجد الغذاء والرطوبة والحرارة المناسبة لنموها وتكاثرها . ونظرا لكون الظروف المشجعة لمعيشة ونمو العديد من الاحياء المجهرية هي تلك التي يعيش الانسان في ظلها ، فمن المؤكد اننا نعيش وسط حشد غفير جدا من الميكروبات . فهي موجودة في الهواء الذي نتنفسه والغذاء الذي نتناوله ، وتوجد على سطوح اجسامنا وفي جميع ملابسنا وافواننا واثوننا واية فتحات جسمية أخرى . ولسوء الحظ ان أغلب الاحياء المجهرية تعد ضارة لنا ، الا اننا نمتلك طرق مقاومة اجتياح تلك الاحياء الضارة جدا .

وقد سبق وأن ذكر ان عددا من الاحياء المجهرية اثبت اهمية صناعية وتجارية وطبية كبيرة سواء كانت بكتيريا أو خمائر أو أدفان أو طحالب .

2. تقسيم الاحياء المجهرية Classification of Microorganisms

بالرغم من أوجه التشابه المديدة فان هناك اختلافات كبيرة بين الاحياء . وعلى أساس هذه الاختلافات ، يمكن تقسيم معظم الاحياء الى سلكتين نباتية وحيوانية . ومن أهم الاختلافات الواضحة والمهمة بين النباتات والحيوانات هي :-

1. تمتلك الخلايا النباتية جدرا صلبة في حين تكون الجدر الحيوانية مرتبطة بنشام مرن .

2. لا تكون النباتات متحركة بفاعلية في حين تعد معظم الحيوانات متحركة .

3. تحتوي النباتات فقط على الكلوروفيل وتقوم بعملية التخليق الضوئي أي يمكنها تخليق الكربوهيدرات من ثاني اوكسيد الكربون والماء في وجود ضوء الشمس .
في حين لا يمكن أن تقوم الحيوانات بهذا العمل وعليه ينبغي ان تحصل على الطاقة من المواد العضوية ذات الاصل النباتي .

4. تخزن النباتات غذاءها في صورة نشا في حين يمد الجلايكوجين والدهن الاغذية المخزونة الرئيسة في الحيوانات .

وبصورة عامة تقع الاحياء المجهرية التي يهتم بها المختص في علم الميكروبيولوجي تحت قسمي Protophyta و Thallophyta من المملكة النباتية وقسم Protozoa من المملكة الحيوانية . وفي الواقع هناك عوامل (فيروسات) يصنفها بعض الباحثين انها كائنات حية في حين يصنفها البعض الاخر انها غير حية . ونظرا لوجود كائنات حية لا تقع من الناحية الطبيعية تحت اي من الملكتين النباتية أو الحيوانية ، فقد اقترح لها مجموعة أو مملكة ثالثة أنشئت لتضم جميع هذه الاحياء التي لا تعد من النباتات أو الحيوانات . في عام 1866 اقترح عالم الحيوان الالماني هيكل Haeckel مملكة البدائيات أو الاوليات Protista لتضم جميع الاحياء وحيدة الخلية التي سبق وضعها في قسم Thallophyta من المملكة النباتية وفي قسم Protozoa من المملكة الحيوانية . وتتصف البدائيات أو الاوليات Protists بافتقارها الى ترتيب خلوي محدد فضلا عن المعجز في التمييز بين الخلايا بالنسبة لوظيفة ايضية معينة :

وتضم مملكة الاوليات : البكتريا والفطريات والطحالب والبروتوزوا . كما يمكن تقسيم الاحياء المصنفة كأوليات الى فئتين هما ، احياء بدائية النواة Procaryota و احياء حقيقية النواة Eucaryota ، ويقوم هذا التقسيم على اساس الاختلاف في تشريحها الخلوي ، ان ال Procaryota هي احياء لها نوع بدائي من النواة المفتقرة الى غشاء محدد الوضوح ، اذ يكون الانقسام النووي فيها اقل تعقيدا من الانقسام الاعتيادي Mitosis ، كما ان تنظيمها الجيني يكون اقل تحديدا من ذلك الموجود في كروموسومات الاحياء الراقية . ومن ضمن الاحياء البدائية النواة البكتريا والطحالب الخضراء الزرقاء . في حين تمتلك الاحياء الحقيقية النواة غشاء نوويا محددًا وكروموسومات وتظهر انقسامًا خلويًا اعتياديًا .

مثل هذه الخلايا توجد في البروتوزوا والفطريات والطحالب (باستثناء الطحالب الخضراء الزرقاء) •

وفي هذا المجال سنتقصر المناقشة على الفطريات والخمائر والبكتريا والطحالب •

3. الفطريات Fungi

يعتبر البعض الفطريات أنها نباتات لا تتميز بجذور وسيقان وأوراق • ونظرا لعدم وجود الكلوروفيل في خلاياها فانها غير ذاتية التغذية Heterotrophs اذ تحصل على غذاءها اما من مواد عضوية غير حية اي رمية التغذية Saprophytes أو بالعيش على عوائل حية أي طفيلية التغذية Parasites. • والى حد الان تم التعرف على حوالي 100,000 نوع من الفطريات • وتنتشر الفطريات في كل مكان تقريبا ولها تأثير عميق في بيئتها • فهي تفسد الاخشاب والاوراق والانقاض الاخرى مكونة الدبال الذي يعزز التربة ، كما تنفث غاز ثاني أوكسيد الكربون الى الجو حيث تستفيد منه النباتات الخضراء • وتستخدم الفطريات في الصناعات التخمرية لانتاج الاحماض العضوية والانزيمات والكحولات ومركبات أخرى عديدة ، كما تعد مصدرا لبعض المضادات الحيوية • وتسبب الفطريات اذا تركت دون سيطرة أو تحكم في تلف الاخشاب والنسيج والجلد والمواد المازلة الكهربائية و مواد عديدة أخرى ذات أهمية تجارية وصناعية • وتسبب الفطريات امراضا للنبات والانسان وحيوانات أخرى • وكما هو الحال مع الاحياء المجهرية الاخرى فقد تكون الفطريات قوة مفيدة أو ضارة تبعا للانواع المشتركة •

1.3. تقسيم الفطريات والتعرف عليها :

تشابه الفطريات النباتات في بعض الوجوه والحيوانات في وجوه أخرى ، وهذه الاختلافات تعد كافية لكي تجعل من تقسيمها أمرا غير سهل • ويمتد بعض المختصين في علم الفطريات انها طحالب فقدت كلوروفيلها وبالتالي قدرتها في اداء عملية التخليق الضوئي • ويجادل مختصون آخرون في ان الفطريات والبروتوزوا قد بدأ من اسلاف مألوفة ولكنهما انفصلا في عملية التطور • وبناء عليه ، اذا كانت المجموعة الاولى صحيحة في اعتقادها فان الفطريات هي نباتات

ولكن اذا كانت المجموعة الثانية هي المصنوعة فيما تمتد فان الفطريات تمتد من البدائيات . وقد تكون عانديتها الى مملكة البدائيات **Protista** التي تضم جميع الثالوسيات الوحيدات الخلية ، هو الحل الملائم والمنطقي للاراء المختلفة حول كون الفطريات من النباتات أو الحيوانات .

وقبل الدخول في تقسيم الفطريات ينبغي التعرف على بعض الصفات المتبعة في التعرف عليها والتمييز بينها وهي :-

1. الهيئتها مقسمة أو غير مقسمة .
 2. الميسليوم شفاف أو ممتلئ .
 3. الميسليوم ملون أو عديم اللون .
 4. امكانية تكوين سبورات جنسية ونوعها : بيضية Oospores أو لاقحية (زيجية) Zygosporos أو كيسية (زقية) Ascospores .
 5. نوع السبورات اللاجنسية : حافظة Sporangiosporos (منطاة) أو كونيدية Conidia أو مفصلية Athrospores .
 6. صفات الرؤوس السبورية :
 - أ) الحافظات السبورية : الحجم واللون والشكل والموقع .
 - ب) الرؤوس السبورية الحاملة للكونيديات : كونيديات مفردة أو سلاسل أو كونيديات متبرعة أو كتل ، شكل وترتيب الذنبيات .
 7. المظهر المجهرى للسبورات اللاجنسية وخصوصا الكونيدية : الشكل والحجم واللون والنمو أو العشونة والنح .
 8. المظهر المجهرى للعوامل الحافظة أو العوامل الكونيدية : بسيطة أو متفرعة أو مركبة .
 9. وجود تراكيب خاصة (أو سبورات) : المداد Stolon ، أشباه الجنود Rhizoids ، الخلايا القدية Foot cells ، السبورات الكلاميدية Chlamydospores ، والكتل الصلبية Sclerotia والنح .
- ان التقسيم الأكثر قبولا للفطريات هو ذلك الموضح من قبل C. J. Alexopoulos في كتابه "Introductory Mycology" . وبناء على ذلك فان الفطريات تعود

الى القسم Mycota (في مملكة البدائيات) الذي بدوره ينقسم الى تحت القسم Eumycotina اي الفطريات الحقيقية True fungi وتحت القسم Myxomycotina اي الفطريات اللزجة الحقيقية True slime molds . ويضم تحت القسم Eumycotina ثمانية صفوف Classes وصورة صف واحدة Form-class وذلك على أساس المميزات المورفولوجية والطرق المختلفة لتكاثرها .

وبين الشكل (1.1) الوضع التقسيمي للفطريات مع بعض الامثلة عن المجاميع الرئيسة فيها . كما يبين الجدول (1.1) التقسيم المبني لبعض الفطريات الحقيقية . ويشمل تحت القسم Myxomycotina الصف Myxomycetes الذي له اثنان مما تحت الصف يختلفان في طريقة تكوين السبورات حيث يحمل تحت الصف الاول سبوراته بصورة خارجية على الحوامل الفردية ويحمل الثاني سبوراته داخليا .

وعلى أساس المعرفة الحالية فان تقسيم الفطريات اللزجة المختلفة يعد غير منتظم بدرجة كبيرة . وان الاختلافات بينها كبيرة جداً لدرجة ان الفطريات اللزجة المتطفلة داخليا توضع في صف Plasmodio phoromycetes في تحت القسم Eumycotina . كما ان الفطريات اللزجة الخلوية لم توضع الى ما تحت القسم المذكورين في الشكل (1.1) ، وانما وضعت في رتبة Acrasiales . وبطريقة مماثلة فان الفطريات اللزجة الشبكية احتلت رتبة سميت Labyrinthulales .

الجدول (1.1)

التصنيف المبدئي لبعض الفطريات الحقيقية

-
- Kingdom: Protista
 - Division: Mycota
 - Subdivision: Eumycotina
 - Class: Chytridiomycetes
 - Order: Chytridiales
 - Blastocladales
 - Monoblepharidiales
 - Class: Hyphochytridiomycetes
 - Order: Hyphochytriales
 - Class: Oömycetes
 - Order: Saprolegniales
 - Leptomitales
 - Legenidiales
 - Peronosporales
 - Class: Plasmodiophoromycetes
 - Order: Plasmodiophorales
 - Class: Zygomycetes
 - Order: Mucorales
 - Entomorphthorales
 - Zoopogales
 - Class: Trichomycetes
 - Order: Eccrinales
 - Class: Ascomycetes
 - Subclass: Hemiascomycetidae
 - Euascomycetidae
 - Loculoascomycetidae
 - Class: Basidiomycetes
 - Subclass: Heterobasidiomycetidae
 - Homobasidiomycetidae
 - Form-class Deuteromycetes
 - Form-order: Sphaeropsidales
 - Melanconiales
 - Moniliales
 - Mycelia Sterilia
-

وستركز اهتمامنا فيما يلي على الفطريات الحقيقية وخصوصا المهمة منها
 ميكروبيولوجيا • وبصورة عامة يطلق على الفطريات اسم اعفان Molds.
 وبالرغم من أن المصطلح عفن غير معرف بدقة إلا أن معظم البيولوجيين يعتبرون
 جميع الفطريات الخيطية الصغيرة والتي تكون جميعها متعددة النوى ، اعفانا •
 ويتعرف على العديد من هذه الاعفان بواسطة المظهر القطني ليسليومها الخضري •
 وفيما يلي نبذة مختصرة عن كل صف من صفوف الفطريات الحقيقية :-

1. صف الفطريات الكيتريدية Class Chytridiomycetes — تتميز

فطريات هذا الصف بأحتوائها على خلايا (Zoospores أو Planogametes)
 متحركة بواسطة سوط طرفي خلفي واحد • يعيش معظمها في البيئات المائية إلا أن
 بعضها يعيش في التربة • وهي ميكروصكوبية الحجم ، والعديد منها مترم إلا أن
 بعضها متطفل على الطحالب مسببا تلفها ، ولا تعد مهمة من الناحية الاقتصادية
 بصورة مباشرة • ويضم هذا الصف ثلاث رتب •

2. صف الفطريات Class Hyphochytridiomycetes — هناك 15

نوعا من الفطريات المائية تتحرك بواسطة سوط في مقدمة الخلية • وبعض أفراد
 هذا الصف يكون متطفلا على الطحالب والفطريات في حين يكون البعض الآخر
 مترما •

3. صف الفطريات البيضية Class Oömycetes — ينقسم هذا الصف الى اربع

رتب جميعها مائية ولكن بعضها أرضية • قد يسبب المتطفل منها أمراضا للأسماك
 والبعض الآخر يسبب أمراضا للنبات • لأفراد هذا الصف أهمية اقتصادية كبيرة •
 وتتكاثر الفطريات البيضية جنسيا ولا جنسيا ، وغالبا ما يكون التكاثر الجنسي
 بواسطة خلايا مختلفة الامشاج Heterogametangia • أن تكوين السبور
 البيض Oöspore في الحافظات البيضية Oogonia يعد سمة لمعظم فطريات هذا
 الصف •

4. صف الفطريات Class Plasmodiophoromycetes — ويضم هذا

الصف الفطريات للزجة المتطفلة داخلها والتي تتطفل على النباتات الوعائية

والطحالب المائية والفطريات المائية . وهناك رتبة واحدة وعائلة واحدة في هذا الصف ولكن تم تعيين تسعة أجناس منها . وكانت هذه الفطريات قد وضعت سابقا مع الـ *Myxomycetes* أو الفطريات اللزجة الحقيقية ، إلا ان الاختلافات البيولوجية في تكاثرها وتركيب الجدار الخلوي وأصلها بررت وضعها في صف منفرد .

5. صف الفطريات اللاقعية (الزيتية) Class Zygomycetes — ويتميز

أفراد هذا الصف بتكوين ميسوريات جنسية قديمى السبورات اللاقعية *Zygosporos* وذلك بواسطة اتصال الخلايا المشيجية ، كما وتتكاثر لا جنسيا بواسطة سبوريات حافظة *Sporangiospores* أو كونيديات . وأساسا تعد هذه الفطريات أرضية وقسم منها مترمم بينما البعض الآخر متطفلات اجبارية أو نفعية . ويضم هذا الصف ثلاث رتب هي *Mucorales* و *Entomophthorales* و *Zoopagales*. وتعد رتبة *Mucorales* ذات أهمية خاصة للمتخصص في علم الميكروبيولوجي لاهميتها الصناعية والبستنية . وأن جميع أفراد رتبة *Mucorales* هي مترمات والعديد منها مفيد في تخليق بعض المواد الكيميائية ذات القيمة الكبيرة مثل الكحولات وحامض الفيوماريك وحامض اللاكتيك وحامض الاوكزاليك وعدد آخر من المنتجات . ويشترك في جميع هذه العمليات الصناعية الفطر *Rhizopus stolonifer* (*R. nigricans*) والفطر *R. oryzae* . ويتغفل بعض أفراد رتبة *Mucorales* على الفواكه والخضراوات النامية ، فيما يهاجم البعض الآخر الفواكه عند التخزين . وقد وجد ان بعض الامراض العصبية التي تصيب الانسان قد تكون بسبب بعض اعضاء رتبة *Mucorales* . أما الفطريات العائدة الى رتبة *Entomophthorales* فانها عادة متطفلة على الحشرات والمثال الشائع عنها هو فطر الذبابة *Entomophthora muscae* بينما تكون الاجناس الاخرى متطفلة على الانسان وبعض الحيوانات الاخرى والنباتات الرطبة .

وتحتوي رتبة *Zoopagales* على عائلة واحدة ذات عشرة أجناس وتكون متطفلة على الحيوانات الرطبة كالبروتوزوا والتماتودا . وتتكاثر بعضها لا جنسيا بواسطة الميسوريات الكلاميدية *Chlamydospores* ، في حين يتكاثر البعض

الآخر الذي يمد متباين التالوس *Heterothallic* بواسطة التكوين الجنسي للنبورات الزيجية .

6. صف الفطريات *Class Trichomycetes* - لم تدرك هذه الفطريات بتوسع وذلك للنقص في المعلومات الخاصة عن تحديد ملاصقتها . وعلى أساس المعرفة الحالية فان جميع امضاء هذا الصف متطفل أو مؤاكل *Commensals* على الحيوانات المفصولة حيث تتصل فيها بالقناة الهضمية أو بالبشرة . وقد وضعت رتبة واحدة في كتاب *Alexopoulos* هي رتبة *Eccrinales* . ان اجسام هذه الفطريات طويلة ورفيعة وغير متفرعة ، وتتكاثر لا جنسيا في حين لم تلاحظ أية ملامح للتكاثر الجنسي .

7. صف الفطريات الكيسية (الزقية) *Class Ascomycetes* -- قد تدعى فطريات هذا الصف في بعض الاحيان بالفطريات الكيسية *Sac fungi* وتتميز بان الميسليوم يكون أكثر تطورا الا في حالة الخمائر ومقسم بفواصل عرضية تفصل الخلايا عن بعضها . وتتكاثر هذه الفطريات بواسطة النبورات الكيسية *Ascospores* التي تنتج بعد الانقسام الاختزالي الذي يعقب التكاثر الجنسي . وتنتج النبورات الكيسية في اكيراس *Asci* (ومفردها *Ascus*) . ويضم صف الفطريات الاسكية ثلاثة مما تحت الصف *Sub-classes* مصنفة على أساس طريقة تكوين الكيس وتركيبه . اذ يضم ما تحت الصف *Hemiascomycetidae* الخمائر مثل *Saccharomyces* وتنتج اكيراسا عارية ، بينما ينتج ما تحت الصف *Euascomycetidae* وما تحت الصف *Loculoascomycetidae* اكيراسا في ثمار كهيبة *Ascocarp* .

ان الفطريات الكيسية وخصوصا الخمائر مهمة للانسان بطرق متعددة ، حيث ان استخدامها في الصناعات التخمرية وصناعة الخبز وصناعة البيرة وكمصدر مهم للمواد الغذائية للانسان معروف جيدا . الا انها تشترك أيضا في اختزال النباتات الميتة الى دبال وفي هضم السليلوز في الخشب والمخلفات الاخرى . وتعد الفطريات الكيسية الاخرى ممرضة للنباتات . تكون مسؤولة عن العديد من الامراض مثل مرض جرب التفاح وصدأ البجرب وغيرها .

3. صف الفطريات البازيدية Class Basidiomycetes — تتميز هذه

الفطريات بوجود تركيب حامل للصبورات يعرف بالبازيدة *Basidium* محمولة عند الطرف البعيد من الهيكل الثنائية النواة . وتحتوي البازيدات على انوية تنقسم ثلاثي الانقسام الاختزالي ، والانوية الاحادية المجموعة الكروموسومية *Haploid* الناتجة او سليلاتها تنقسم ضمن الصبورات البازيدية *Basidiospores* . وتعد الاصداء *rusts* ، والتفحمات *Smuts* والفطريات الهلامية *Jelly fungi* امثلة للفطريات البازيدية . وتكون بعض الفطريات البازيدية (وخاصة ما تحت الصف *Heterobasidiomycetidae*) مسؤولة عن تلف الابنية الخشبية مثل قضبانات ربط السكة الحديدية واعمدة التلفون . وبعض الانواع المتطفلة مثل الاصداء والتفحمات تنتج تلف محاصيل العنطة والبعض الاخر يهاجم اشجار الفاكهة ونباتات الزينة . والفطريات الموجودة في ما تحت الصف *Homobasidiomycetidae* تضم فطريات كبيرة ترى بالعين المجردة ومن امثلتها المرمونات *Mushrooms* والقرون النتنة *Stinkhorns* وغيرها التي ليست ذات أهمية مميّنة بالنسبة للميكروبيولوجيين .

4. صورة صف الفطريات الناقصة Form-Class Deuteromycetes —

تضم الفطريات الناقصة *Fungi Imperfecti* أكثر من 10,000 صورة نوع حيث صُنفت موية لعدم معرفة التكاثر الجنسي فيها . ولقد تعد الفطريات الناقصة أطوارا كونيدية للفطريات الكيسية أو فطريات هاريدية لم يكتشف بعد طورها الجنسي . وتحتوي صورة الرتبة *Moniliales* المائدة لصورة الصف *Deuteromycetes* على الاف من صورة النوع اذ ان العديد منها يعد مهما من الناحية الصناعية والطبية . كما أن بعض صور الانواع تكون معرضة للنبات والبعض الاخر ممرض للحيوان .

الفطريات اللزجة The Slimy Molds :

نعود ثانية الى وصف فطريات الصف *Myxomycetes* المسماة بالفطريات اللزجة الحقيقية . ولاعضاء هذه المجموعة تشابه بسيط ببعض الاحفان هذا كونها منتجة للصبورات . وبسبب تشابهها مع الاميبا في جوانب معينة فان البعض قد

يصنفها كحيوانات ويطلق عليها الاسم Mycetoza أو الحيوانات الفطرية
• Fungus animals.

من الملامح المميزة للفطريات اللزجة هو أن طورها الخضري عبارة عن كتلة بروتوبلازمية عارية متعددة النوى تسمى البلازموديوم Plasmodium. • ويتباين هذا الجسم اللزج في الحجم واللون وقد يغير شكله عندما يزحف على المواد التي ينمو عليها • ويحصل الفطر على غذائه بتناوله البكتيريا وسبورات الفطريات الأخرى واية مادة متناهية الدقة • كما قد يحصل على الغذاء من المواد العضوية في التربة والأوراق الميتة والأجزاء الخشبية البالية التي ينمو عليها •

وتحت الظروف البيئية المناسبة تتحرك البلازموديات بطريقة الأميبا أخذة الغذاء نامية في الحجم • وعندما تصبح الظروف غير مواتية للنمو فإن الفطر قد يصبح غير نشط ويكون كتلة صلبة Sclerotium صميكة ولكنها ليست لزجة • وعند عودة الظروف المواتية فإنه يصبح على شكل بلازموديوم ثانية • ويبدو أن الظروف البيئية تؤثر في عدم عملية تكوين السبورات •

وتتباين الحافظات السبورية Sporangia بين الأنواع • فالبيض منها يحمل على حوامل تنشأ من البلازموديوم الذي يصبح كثيفا ومجمدا وقد يعطي عقدا صغيرة تعمل كقاعدة للحامل القصير لكي ينبت ويبرز • وتتكون الحافظة السبورية على هذا الحامل • وفي بعض الأنواع قد تتكون الحافظة السبورية مباشرة من البلازموديات بدون أي حامل • وغالبا ما تكون الحافظات السبورية كبيرة إلى درجة يمكن رؤيتها بالعين المجردة كما قد تكون مخضبة • وعندما تنضج الحافظات السبورية يتكون عند من السبورات الفردية التي تنبت عندما تقع على مادة غذائية مناسبة • وينتج كل سبور بين خلية إلى أربعة خلايا تتميز بوجود أسواط فيها • تنقسم إلى حالة أميبية تالية وتعمل كمشبهات Gametes • وبعد الاندماج الجنسي تنقسم اللاقحات Zygotes انقساماً امتيادياً عدة مرات ومن ثم تتطور إلى بلازموديات متممة بذلك دورة الحياة •

وفضلا من أهميتها كأنواع بيولوجية مهمة ودورها في تفسخ وتهريم النباتات والحيوانات الميتة • فإن بعضها منها يكون متطفلا على النباتات الراقية •

الحية للنبات العائل . وتحدث الإصابة عندما ينفذ السبور السامح Zoospore في جذير النبات العائل مثل اللهانة ويصبح في الحال اميبا لزجة Myxameba وينمو الى بلازموديوم . ان زيادة حجم البلازموديات تؤدي الى انتفاخ جذور النبات العائل . وبتقدم الإصابة يحدث انقسام نووي مؤديا في نهاية الامر الى تكوين السبورات التي تقيم في خلية العائل حتى موت وتفسخ العائل . وبالتالي تنطلق السبورات وتصبح حرة في إصابة بادرات جديدة .

— الرتبة Acrasiales —

وهي الفطريات اللزجة الخلوية التي تكون حرة المعيشة وشبيهة بالاميبا وبدون أسواط ولا تكون بلازمودياتها متعددة النوى . وبسبب هذه الاعتبارات واختلافات أخرى بين الفطريات اللزجة ، فقد صنفت هذه الفطريات بصورة منفصلة عن الاخرى .

— الرتبة Labyrinthales —

استثنت أفراد هذه الرتبة أيضا مما تحت القسم Eumycotina وما تحت القسم Myxomycotina . ويطلق على هذه الفطريات اسم الفطريات اللزجة الشبكية Net slime molds بسبب ترسيبها لمادة لزجة بشكل شبكة رقيقة على السطوح التي تنمو عليها . وغالبا ما يكون لخلاياها شكل بيضوي أو شمعي بالخلخل . وهذه الاحياء مألوفة جدا في البيئات البحرية حيث تنمو كمستطافات أو مقرمعات على الطحالب البحرية .

في الصفات العامة للأعفان :

ان الاختلاف المورفولوجي الرئيس بين الفطريات التي نسميها أعفانا والفطريات الاخرى هو أن التراكيب الثمرية للأعفان تكون خيطية بشكل واضح في حين ان تلك التي لا ندعوها أعفانا مثل المرحون, Mushroom تكون اجساما ثمرية لحمية . ان المصطلح (عفن mold) شائع جدا ويستعمل للدلالة على الفطريات الخيطية المتعددة الخلايا التي يمكن تمييز نموها على الاغذية بسهولة بواسطة ظهورها الزغبي أو الفطني . ويبدو الجزء الرئيس من النمو بلون ابيض

وقد يكون ملوناً أو داكناً أو بلون دخاني . والسبورات الملونة هي نموذج لنباتات
المضن الناضجة من بعض الانواع وتمطي اللون الى جزء من النمو أو اليه بأكمله .

1.3.3. الصفات المورفولوجية -

تستخدم مورفولوجية الاعقان ، اي الشكل والتركيب ، التي تحكم بواسطة
مظهرها المياني أو المجهرى في تشخيصها وتصنيفها .

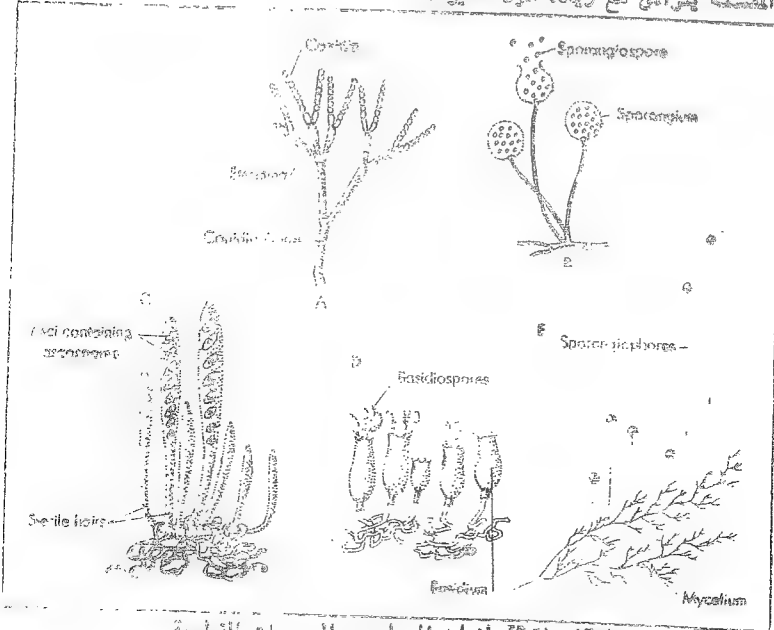
(1) الهيفات والميسليوم Hyphae and Mycelium -

يتألف نبات المضن من كتلة متفرعة خيطية تدعى هيفات (Haphae مفرداً
هيفا Hypha) في حين يطلق على الكتلة الكلية لهذه الهيفات اسم الميسليوم
Mycelium . وقد تكون الهيفات مغمورة Submerged اي تنمو خلال الغذاء ،
أو هوائية Aerial اي تنمو فوق الغذاء . وقد تصنف الهيفات أيضاً الى هيفات
خضرية Vegetative اي النامية وبذلك تكون متخصصة بتفذية المضن ، أو
هيفات خصبة Fertile اي تكون متخصصة بانتاج الاجزاء التكاثرية . وفي
أغلب الاعقان تكوّن الهيفات الخضرية هوائية الا انها قد تكون في البعض الآخر
مغمورة . وتكون هيفات بعض الاعقان ممتلئة وملساء في حين ان هيفات البعض
الآخر رفيعة وخشنة . وتنتج أنواع قليلة من الاعقان كتلا صلبة Sclerotia
(مفرداً Sclerotium) وهي كتل محكمة العشو من هيفات مجورة وغالبا ما تكون
رفيعة الجدران ضمن الميسليوم . وتعد هذه الكتل الصلبة نوعاً ما أكثر مقاومة
للحرارة والظروف غير المؤاتية مقارنة ببقية الميسليوم ، ولهذا السبب تكون مهمة
في بعض منتجات الأغذية المصنعة .

ويظهر الفحص المجهرى لهيفات المضن صفات مهمة في تشخيص الانحناص .
ويوضح الشكل (2.1) والشكل (3.1) انواع الميسليوم الفطري وأنواع الهيفات
على العكس . وتنقسم الاعقان الى مجموعتين : مقسمة Septated اي وجود
جدران عرضية تقسم الهيفا الى خلايا ، وغير مقسمة Non-septated اي تظهر
الهيفات بشكل اسطوانات وبدون جدران عرضية . وللهيفات غير المقسمة نوع
منتشرة خلالها بحيث تمتد متعددة الخلايا . ان هيفات معظم الاعقان شفافة الا ان
البعض منها داكن أو بلون دخاني . وقد تبدو الهيفات غير ملونة وشفافة عند

المجهرية :

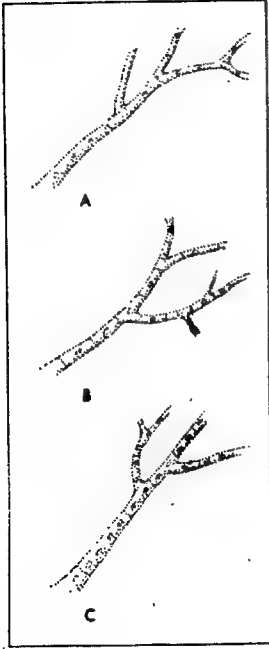
تتكون الفطريات الخميرة في المائل بواسطة (1) الخلية الواحدة أو الزمرة (نوع قضي) ثم انقسام الخلايا ضمن الجراثيم (نوع قضي) *Aspergillus* ونوع القضي في سبغ نوع القضي ، ان انقسام القضي (2) خلايا أو زمرات قضي الخميرة يتراعى مع زيادة طول التبرول .



الشكل (21) أنواع الفطريات والبسورات الفطرية .

(A) الاجسام الثمرية لـ *Penicillium* ; B : الاجسام الثمرية لـ *Rhizopus* ; C : مقطع في الـ *Ascomycetes* ; D : مقطع للمرغوفين من الـ *Basidiomycetes* ; E : العوامل المانطية والبسور في عفن *Phoma* .

وتتخذ بعض التركيبات أو الاجزاء الخاصة بالفطريات في تصنيفها الامكان ومن الامثلة على ذلك في انحاء الفطر *rhizoid* لـ *Rhizopus* ؛ ومن *Aspergillus* ، والخلية القدية *foot cell* في عفن *Abutila* . والشكل الموضح لـ *delectomare* أي الشب بالاصفر (2) في عفن *Strobilium* .



الشكل (3.1) ثلاثة أنواع مورفولوجية للهيفات

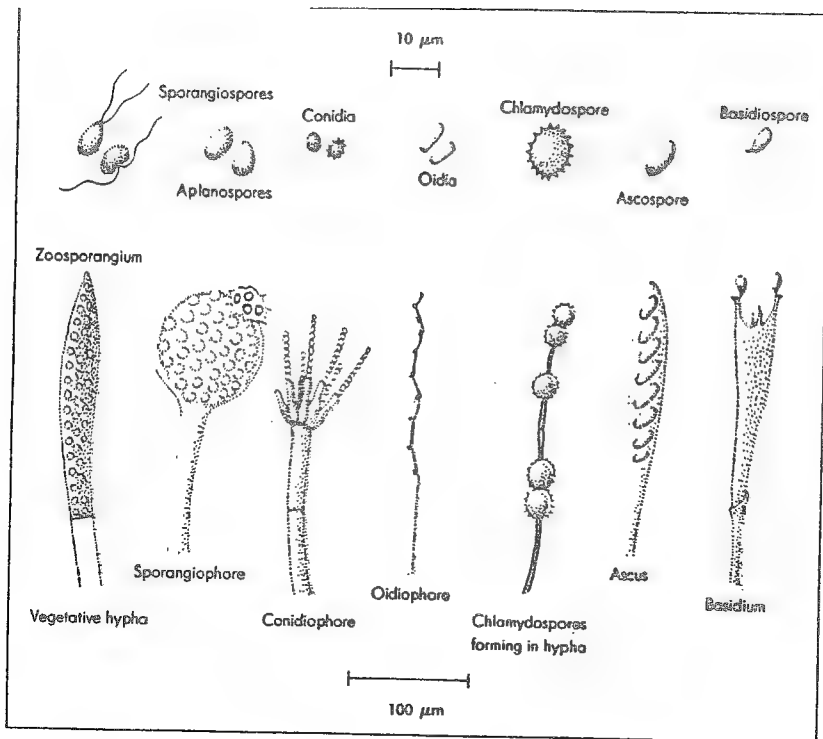
- A. غير مقسمة .
- B. مقسمة الى خلايا وحيدة النوى .
- C. مقسمة الى خلايا ممتدة النوى .

(ب) الاجزاء أو التراكيب التكاثرية -

يمكن للاعقان ان تنمو من قطعة منزوعة من الميسليوم ولكن نادرا ما يحدث ذلك . ان تكاثر الاعقان يكون بالدرجة الاساس بواسطة السبورات اللاجنسية كما ان بعض الاعقان يكون سبورات جنسية .

ويقال من مثل هذه الاعقان بانها تامة او كاملة وتصنف اما الى فطريات بيضية *Oomycetes* او فطريات لاقعية *Zygomycetes* اذا كانت غير مقسمة او الى فطريات كيسية *Ascomycetes* او فطريات بازيدية *Basidiomycetes* اذا كانت مقسمة بالمقارنة مع الاعقان او الفطريات الناقصة التي تكون اسامسا مقسمة ولها سبورات لا جنسية نعسب . ويوضح الشكل (4.1) انواع السبورات في الفطريات .

وتنتج الاعقان سبورات لا جنسية باعداد كبيرة تكون صغيرة وخفيفة ومقاومة للجفاف . وتنتشر هذه السبورات بسهولة خلال الهواء لتحل ثانية وتبدأ في تكوين نباتات عفن جديدة جيشا تكون الظروف ملائمة . ان الانواع الثلاثة الرئيسة من



الشكل (4.1) - أنواع السبورات في القطريات

- (1) الكونيديات Conidia (مقودما Conidium)
 - (2) سبورات منفصلة arthrospores أو اويديات oidia (مسرودما)
 - اويديا (Oidium)
 - (3) سبورات حافظة Sporangiospores .
- وتعد الكونيديات قطعاً أو براعماً من الهيفات النخبة تدعى بالعوامل الكونيدية Conidiophores وعادة ما تكون مفتوحة أي لا تقع ضمن أية حاوية كما هو الحال مع السبورات الحافظة الموجودة في الحافظة السبوربة Sporangium (جمعها حوافظ سبوربة Sporangia) أو في كيس في قمة الهيفات النخبة يسمى بالعامل الحافطي Sporangiphore .

وتتكون السبورات الفصليّة *Arthrospores* من نكس أو تهيئة الهيفيا بحيث تصبح خلايا الهيفيا اربوسبورات . أما النوع الرابع من السبورات اللاجنسية فهي السبورات الكلاميدية *Chlamydospores* التي تكونها العديد من انواع الفطريات عندما تقوم خلية هنا أو هناك في الجو اليوم بتخزين غذاء احتياطي ، فتتفتح وتكون جسداً أصغر من تلك الموجودة في الخلايا العتيقة . وعليه فإن السبور الكلاميدي هو خلية في طور راحة أو سكون يمكنها تحمل الظروف غير المؤاتية بصورة أفضل من مستطيرم الفطر الاحتياطي ولكن فيما بعد وعندما تتجه ظروف مؤاتية فإن هذا السبور ينمو مكوناً نبات عفن جديد .

وتعقد مورفولوجية السبورات اللاجنسية في تشخيص اجناس وأنواع الاعفان وتبين السبورات الساقطية في العجم والشكل واللون . أما الكونيديات فإنها لا تحتفظ في مثل هذه الاضياء ولكنها قد تكون ملبسام أو شحنة أو قد تكون مفردة أو مزدوجة أو متعددة الخلايا .

وكذلك يتغير مظهر الهيفيات الخسبة والسبورات اللاجنسية الموجودة عليها في بعض الاعفان . وإذا تكثرت السبورات الساقطية ، ينبغي ملاحظة ما اذا كانت بسيطة أو معقدة وكذلك نوع التفرع وتسمم وشكل ولون وموقع الحواظ السبورية . ويدهى الرأس التفتح من السبور الفطري بالموميذ *Columella* الذي يبرز في الباطنة السبورية متخذاً اشكالاً نموذجية لأنواع الفطر . وقد تحمل الكونيديات مفردة على السراويل الكونيدية أو في رؤوس سبورية بترتيب وتعقد مختلفين . إن الغالب طريقة شائعة على المظهر العام للرأس السبوري غالباً ما يكون كأنها لتشخيص الجنس . وبعض الاعفان كونيديات بشكل صلاسل تطوق طرفها بالضغط الواضحة بعد التعرض عن طبقة خاصة تدعى الذهب *Sterigma* (جمعها *Sterigmata*) أو *Phialide* . عند قمة الحامل الكونيدي . وبعض الاعفان الأخرى كمثل من الكونيديات هي قطع من قمة الحامل الكونيدي وبدون ذنبيات واضحة . وقد تكون هذه الكتل من الكونيديات حرة أو ملتصقة بسوسة . وقد تتبرعم كونيديات بعض الاعفان من الحامل الكونيدي وتستمر في التكاثر بواسطة الفطري وتنبثق بفتحة تسمى بالفتحة .

أما الاغقان التي يشكلها اتحاد ميسوريات جنسية Sexual spores ثنائيا
تقسم على أساس طريقة تكوين هذه الميسورات وتسمى . فالاغقان غير المقسمة
(الفطريات الطحلبية Phycomycetes) التي تنتج ميسورات بيضية Oospores
يطلق عليها الفطريات البيضية Oomycetes . ومعظم هذه الاغقان هي صور
هائية للفطريات . وتتكون هذه الميسورات البيضية من اتحاد مشيج ذكري صغير
مع مشيج انثوي كبير . وتكون الفطريات اللاقحية Zygomycetes ميسورات
لاقحية Zygaspores بواسطة اتحاد رأسي اثنتين من الهيفات اللتين تبدوان
متماثلتين وتأتيان من الميسليوم ذاته أو من ميسليا مختلفة . وتكون كلا الميسورات
البيضية والميسورات اللاقحية مغطاة بجدار متين . ويمكنها البقاء لفترة طويلة
في الجفاف . وتكون الفطريات الكيسية Ascomycetes (وهي فطريات
مقسمة) ميسورات جنسية تعرف بالميسورات الكيسية ascospores اذ تتكون بعد
فترة من اتحاد خليتين من الميسليوم ذاته أو من ميسليا منفصلة . والميسورات
الكيسية الناتجة عن انقسام الخلية بعد التزاوج تكون موجودة في كيس ascus
يحتوي عادة على ثمانية ميسورات . وقد تكون الاكياس مفردة أو بشكل مجاميع
ضمن هلال يدعى بالثمرة الكيسية ascocarp ، الذي يتكون بواسطة تفرع
وتطفر الهيفات المتجاورة . وتكون الفطريات البازيدية Basidiomycetes
التي تضم معظم المرحونات mushrooms وأصداء النبات والتفحمت وغيرها
نوعا رابعا من الميسورات الجنسية هي الميسورات البازيدية basidiospores .

2.2.3. الصفات الفسيولوجية -

✱ من الناحية الفسيولوجية ، تكون الاغقان أكثر قدرة على التكيف مع الظروف
البيئية القاسية مقارنة بالاحياء المجهرية الاخرى . وعلى سبيل المثال ، تستطيع
الاغقان النمو على مواد تحتوي على تراكيز من السكر لا تتمكن البكتريا من تحملها
وذلك لكون الاغقان غير حساسة مثل البكتريا للضغوط الازموزية العالية . وتستطيع
الاغقان ان تحصل وتنمو في تراكيز عالية نسبيا من العاوض . ان مدى اس
هيدروجيني (pH) بين 2.0-9.0 يمكن تحمله ، الا ان الامن الهيدروجيني المثالي
لمعظم الانواع هو 5.6 .

بالرغم من أن الماء ضروري لنمو الاعفان فضلا عن امكانية الحصول عليه من الجو ومن الوسط الغذائي ، فان الاعفان يمكنها البقاء في البيئات الجافة التي تعد مثبطة لمعظم البكتيريا غير تلك المكونة للسبورات . وعندما تصبح البيئة جافة ، تنتج الاعفان سبورات أو تدخل في طور راحة .

ان معظم الاعفان هوائية بشكل تام ، وعليه فان نموها يتميز بوجود امداد غزير من الاوكسجين . كما تنمو الاعفان على مدى واسع من درجات الحرارة الا ان الحرارة المثلى لمعظم الانواع تقع بين 22—30 م . وتنمو بعض الاعفان على درجة الصفر المئوي مسببة تلف اللحوم والخضراوات في مخازن التبريد . وهناك اعفان أخرى محبة للحرارة العالية تنمو على درجات حرارة تصل الى 62 م . كما ان بعض الانواع المكونة للكتل الصلبة تكون اكثر مقاومة للحرارة .

ويعد الجلوكوز مصدرا كربونيا مناسبيا لمعظم الاعفان ، الا ان سكريات أخرى وخصوصا السكروز والمالتوز فضلا عن العديد من المركبات الكربونية العضوية الأكثر تعقيدا كالنشا والسليولوز تستخدم من قبل العديد من الانواع . وقد يفيد النتروجين اللاعضوي في صورة أملاح الامونيوم أو النترات كمصدر للنتروجين لبعض الانواع ، غير ان البعض يحتاج الى المواد النتروجينية العضوية التي تستفيد منها جميع الانواع على حد سواء وتحتاج الاعفان الى وجود بعض العناصر المعدنية والفيتامينات لنموها .

وللاعفان القدرة على تمثيل عدد واسع من المواد الغذائية والاستفادة منها ، كما انها كفوة بدرجة كبيرة في تحويل المغذيات الى مادة خلوية ونواتج تمثيل أخرى . لذلك قد تستخدم مثل هذه الاعفان في بعض التخمرات الصناعية لانتاج مواد مهمة كالكحولات والاحماض العضوية وبعض المضادات الحيوية والانزيمات وغيرها .

3.3 الاعفان المهمة صناعيا -

هناك اعفان كثيرة ذات أهمية صناعية الا اننا سنمطي امثلة على بعض منها المستخدمة في التخمرات الصناعية على أن لا ندخل في تفاصيل الانتاج التي سورد ذكرها فيما بعد . ومن هذه الاعفان المهمة بعض افراد *Mucor* و *Rhizopus*

المائدين الى الفطريات الزيجية وكذلك بعض افراد جنسي *Aspergillus* و *Penicillium* المائدين الى الفطريات الناقصة .

4. الخمائر والفطريات الشبيهة بالخمائر *Yeasts and Yeast like Fungi*

كما هو الحال مع الففن فان الاصطلاح (خميرة) شائع الاستخدام ولكنه حسب التعريف . وهذا الاصطلاح سيستخدم للإشارة الى تلك الفطريات الكيسية *Ascomycetes* التي تكون بصورة عامة غير خيطية ولكنها احادية الخلية بيضوية أو كروية .

ولقد تكون الخمائر مفيدة أو ضارة لنواح عديدة في حياة الانسان واقتصادياته وتدخل التخمرات المستخدمة فيها الخميرة في صناعة الخبزة مثل الخبز والبيرة والابنية والخمروبات الكحولية الاخرى والخل وفي انتاج الجبن ، كما قد تسمى الخميرة لانتاج الانزيمات أو قد تسمى لاستخدامها كغذاء للانسان أو الحيوان . وقد تعد الخمائر ضارة وفي مرفوعة عندما تسبب تلف اغذية الانسان مثل المخللات ومصاص الناقة والمصاص السكرية المركزة كالشراب والحواسي ومسبب التحلل والمريبات فضلا عن الابنية والبيرة واللحم واغذية أخرى .

1.4. تقسيم الخمائر والتعرف عليها -

كان تقسيم الخمائر في السابق غير منتظم بسبب اعتماده بالدرجة الاولى على الصفات المورفولوجية التي قد تتباين في النوع الواحد في بيئات مختلفة . والنظام الاكبر دقة في تقسيم الخمائر يقوم على صفات المماثلة الجنسية للكائن فضلا عن التغير واستغلال الكربوهيدرات . فالمائلة *Saccharomycetaceae* تضم جميع الخمائر المكونة للسبورات الكيسية الحقيقية *ascopogenous* (أو الخمائر الجنسية) . أما الخمائر اللاجنسية فانها لا تكون سبورات كيسية *asporogenous* وتعود الى احدى العائلات الاخرى *Cryptococcaceae* أو *Rhodotorulaceae* أو *Sporobolomycetaceae* .

ان تقسيم الخمائر يخضع للتغير باستمرار ، اذ يتم توضيح انواع جديدة وتوضيح صفات جديدة في كتب التصنيف المرجعية . ان تقسيم المائلة *Saccharomycetaceae* أو الخمائر المكونة للسبورات الكيسية

ascosporogenous yeasts وكذلك تقسيم العائلة Cryptococcaceae
 أو الخمائر غير المكونة للسبورات asporogenous yeasts مرفضان للتغير كلما
 أحرزت معلومات مورفولوجية وفسيولوجية جديدة تتعلق بهذه الأحياء •
 أن المايير المستخدمة في تقسيم الخمائر ، حيثما أمكن باستخدام الطرق
 القياسية هي :-

1. التكاثر الخضري :

(أ) التبرعم budding

(ب) الانقسام البسيط fission

ان هذين المياريين استخداما بكثرة لسنوات عديدة في تصنيف الخمائر ، ولكن
 بعض العلماء يعتقدون بانها أقل أهمية من بعض المايير الأخرى •
 2. التكاثر الجنسي :

(أ) طريقة تكوين الاكياس السبورية وشكلها •

(ب) هند وشكل ولون السبورات في الاكياس •

(ج) كيفية انبات السبورات •

الا ان العوامل المتحكمة في تكوين السبورات الكيسية غير معروفة جيداً •

3. التخمر والتمثيل :

وفيما يلي بعض المايير المستخدمة في تقسيم الخمائر :

(أ) القدرة على تخمير سكريات معينة •

(ب) معدل التخمر •

(ج) تمثيل مركبات كربونية معينة •

(د) تمثيل مركبات نيتروجينية محددة •

(هـ) مياير فسيولوجية وكيميائية أخرى منها :

(1) مدى درجات الحرارة لاجل النمو •

(2) الاحتياج الى الفيتامينات •

(3) تحمل كلوريد الصوديوم •

(4) اساهم الجيلاتين •

2.3. المصطلح المائي للدمج .

(6) وهو ما من التي لم توضع لها طرق اختبار روتينية ، وتتضمن التركيب الكيميائي لجدار الخلية ، والمركبات المفردة خارج الخلية ، والخواص الانتهيجية (المولدة للضادات) الخلية ، ومحتوى الـ DNA من القواعد التروجينية الجوانين والصيغتين .

4. مورفولوجية المستعمرات وخواصها كما هو الحال في تقسيم البكتريا وتشمل اللون والقوام وطوبوغرافية السطح والمظهر الخارجي للمستعمرات .
والآن نمود الى تقسيم الخمائر وتسميتها ، فالخمائر الحقيقية true yeasts

تقع في ما تحت القسم Ascomycotina في حين تقع الخمائر الكاذبة false yeast في الخمائر غير المكونة للسيرورات في ما تحت القسم Deuteromycotina، أو الفطريات الناقصة Fungi Imperfecti . وتكون الخمائر المسماة ballistosporeogenous yeasts مسيرورات بالستية ballistospores ولكن ليس غالبا قهرصية . وقد حصرت هذه العائلة Sparobolomycetaceae في الفطريات البازيدية وذلك لان السيرورات تتحرر بواسطة طريقة الاخراج الساقط مثل السيرورات البازيدية ، ومع ذلك لم تلاحظ أية دورة جنسية في الخمائر المكونة للسيرورات البالستية . والشكل (5.1) يوضح التقسيم البدئي للخمائر مع بعض اهم الاجناس .

2.4. الصفات العامة للخمائر .

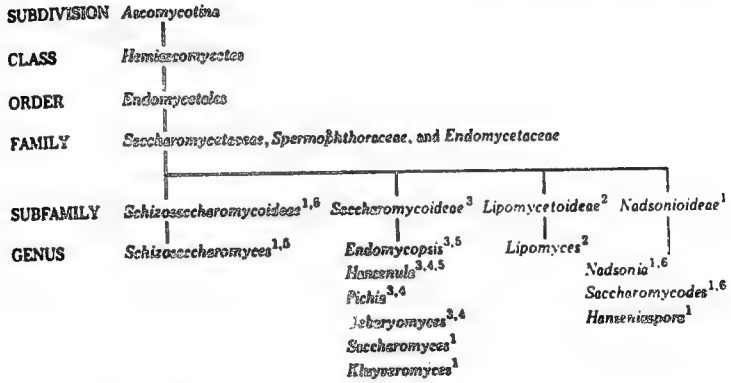
كما ذكرنا ان الخمائر تقسم تبعا لصفاتها المورفولوجية رغم كون الصفات الفسيولوجية مهمة بالنسبة للمتخصص في ميكروبيولوجي الغذاء والميكروبيولوجي الصناعي .

2.4.1. الصفات المورفولوجية -

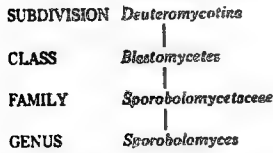
تحدد الصفات المورفولوجية للخمائر بواسطة الفحص المجهرى . وبصورة عامة فان الخمائر هي احياء وحيدة الخلايا في عدد متنوع من الاشكال تتفاوت من الكروي الى البيضاوي الى الانحليبي ومن الاسطوانى الى المتطاوول وحتى الخيطي . وقد يكون

شكل الخلية مثلًا أو قد يتناول ليصبح ميسليوما كاذبًا أو حقيقيًا • ويوضح الشكل (8.1) الأمثال المختلفة من الخمائر •

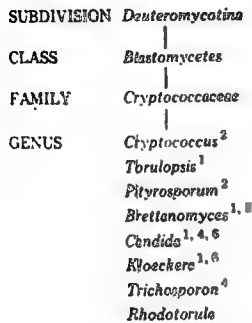
I. The ascosporogenous yeasts



II. The ballistosporeogenous yeast (asexual yeast — do not form ascospores)



III. Yeast that do not form ascospores or ballistospores (the asporogenous yeasts or Fungi Imperfecti)

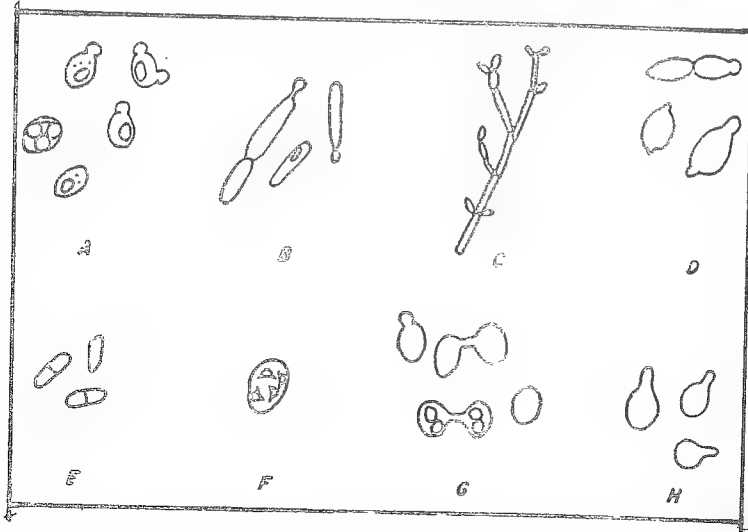


الشكل (5.1) • التقسيم البدئي للخمائر مع بعض أهم الاجناس •

- 1 موجبة التخمر • 2 مالبة التخمر • 3 موجبة أو مالبة التخمر •
- 4 قد تكون غشامًا رقيقًا • 5 الميسليوم حقيقي أو كاذب • 6 ذات شكل

ليموني (Apiculate) •

وتختلف الخمائر في الحجم ، زعموما تكون خلايا الخميرة اكبر من معظم البكتيريا ولكن اصغر الفئائر ليست كبيرة لدرجة تفوق في حجمها اكبر بكتيريا .
وتنضات ابعاد خلية الخميرة بين 2-5 ميكرومتر في العرض و 5-10 ميكرومتر في الطول . ويختلف حجم وشكل الخميرة تبعا للعرض والظروف البيئية . ولا تمتلك الخمائر اسواط أو أي أعضاء حركية .



الشكل (6.1). الامتكال المختلفة من الخمائر .

حيث : (A) خميرة *Saccharomyces cerevisiae* مع شكلها النموذجي وكبير

واحد فيه اربعة جزيئات كسيرة

(B) خميرة ال *Candida* ذات الخلايا الطويلة

(C) خميرة ال *Candida* ويظهر فيها الميسليوم الكاذب

(D) خميرة *Apiculate* (ذات الشكل اللبوني)

(E) خميرة *Schizosaccharomyces* المتكاثرة بواسطة الانفصال الميسيط

(F) خميرة *Zygosaccharomyces* ويظهر فيها التماسك بين كسيتين كما تظهر

اربعة جزيئات كسيرة

(G) الخميرة ذات الشكل الدوري

ومن الاجزاء المرئية عند الفحص المجهرى لغلايا الخميرة هي الجدار الخلوي ،
والسايتوبلازم ، وفجوات مائية ، وكريات دهنية صغيرة ، وحبيبات تخزين دقيقة
قد تكون متغيرة اللون أو زلالية أو نشوية . وتتطلب مشاهدة النواة تمصبها خاصة .

3.3.4 تكاثر الخمائر -

تكاثر الخمائر بالطرق التالية :

(1) طريقة التبرعم Budding -

وتتم هذه الطريقة من أكثر الطرق شيوعا في تكاثر الخمائر خضريا
(لا جنسيا) . وفي هذه الطريقة اللاجنسية يمتد انبوب من الفجوة النووية للخلية
الأم باتجاه أقرب نقطة الى الفجوة . ويتكون نتوء صغير على السطح الخارجى
للخلية ، ومن ثم يمر الانبوب خلال الجدار الخلوي الى الفتوة الذي يكبر ويصبح
ممتلئا بالمادة النووية والسايتوبلازمية من الخلية الأم . وعندما يصبح البرعم كبيرا
يمسك توجيه الجهاز النووي في كلا الخليتين بحيث تصبح الكرية المركزية
Centrosome في كل خلية بعيدة عن نقطة الاتصال ، وعند ذاك تنفصل الخلية
الجديدة من الخلية الأم وتكرر العملية لتكوين براعم جديدة .

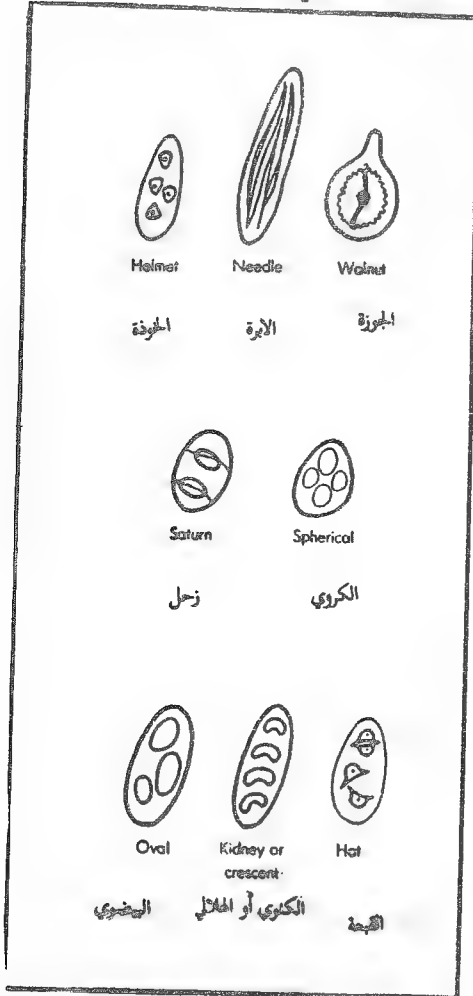
(ب) التكاثر بتكوين السبورات Sporulation -

تكون جميع الخمائر الحقيقية سبورات كيسية بعملية جنسية ، ولهذا السبب
فقد وضعت الخمائر الحقيقية في مجموعة الفطريات الكيسية Ascomycetes .
وعادة يحتوي الكيس من سبور واحد الى اربعة سبورات ولكن العدد قد يكون ثمانية
أو أكثر . ويتكون السبور بواسطة الانقسام المتكرر للنواة ، وكل نواة متكونة
تحاط بمادة سايتوبلازمية ومن ثم بواسطة جدار خلوي .

وقد يحدث تزاوج في التكاثر الجنسي للخمائر مباشرة قبل تكوين السبور

أو مباشرة بعد انباته . وقد تكون هذه السبورات متماثلة الامشاج isogamic
عندما تتزاوج نوى خليتين متماثلتي الحجم والشكل ، أو مختلفة الامشاج
heterogamic عندما تتزاوج نوى خليتين غير متماثلتي الحجم والشكل . وتنقسم
النوى المتزاوجة مرة أو عدة مرات وبالتالي يتكون السبور الكيسي . ويتباين عدد

ما يساعد أكثر من 8 صبورات ، غير ان كيس الخبيزة *Lipomyces* قد يحتوي على 16 صبور كيسي . ويعد شكل الصبور كيسي صفة عامة ويختلف من الكروي والبضيوي والشكل الهلالي والشكل القمبي الى صور أخرى . ويوضح الشكل (7.1) الهياكل المختلفة للصبورات الكيسية في الغمائر .



الشكل (7.1) • الهياكل المختلفة للصبورات الكيسية في الغمائر

ان بعض انواع عائلة *Saccharomycetaceae* تكون سبورات كيميية بسهولة بصرف النظر عن البيئة ، في حين يتطلب البعض الآخر النمو على بيئات خاصة مع التحكم الدقيق بالظروف الزرعية . وقد تفقد بعض الخمائر قدرتها على تكوين السبورات بعد حفظها تحت ظروف المختبر لفترات طويلة نسبيا .

ويتوافق تكوين السبورات اللاجنسية أو الخضرية في الفطريات الكيسية مع انتاج الكونيديات .

وتعود الخمائر الكاذبة أو الناقصة التي لا تكون سبورات كيميية اه اية سبورات جنسية أخرى الى الفطريات الناقصة *Fungi Imperfecti* وعليه فاه تدعى بالخمائر غير المكونة للسبورات وتقع ضمن عائلة *Cryptococcaceae* ويكون تكاثرها اما بالتبرعم أو بواسطة السبورات المفصليية *Arthrospores* كما في بعض السلالات . وقد تكون خلايا بعض الخمائر سبورات كلاميدية *Chlamydospores* وذلك بواسطة تكوين جدر خلوية سميكة حول الخلايا ، وهذه السبورات تقاوم الجفاف أكثر من الخلايا الخضرية ومندسا تتوفر الظروف الملائمة فانها تنبت مكونة خلية خضرية واحدة جديدة بدون تكاثر .

(ج) التكاثر بالانشطار الثنائي *Binary fission* -

وتعد هذه من طرق التكاثر اللا جنسي أو الخضري ، وهي تماثل طريقة تكاثر البكتريا . وفي هذه الطريقة تنتفخ خلية الخميرة أو تستطيل وتنقسم النواة وبذلك تتكون خليتان جديدتان كل منهما تحتوي على نواة وسايتوبلازم كما هو الحال مع خميرة *Schizosaccharomyces* .

(د) التكاثر بالانشطار البرعم *Bud fission* -

وهذه الطريقة تجمع بين التكاثر بالتبرعم والتكاثر بالانشطار الثنائي المرصين سابقا . وفي هذه الطريقة التي تحدث في جنسي الخميرة *Saccharomycetes* و *Debaryomyces* تكون برعم عند نهايات الخلايا ثم يتكون جدار عرضي بين الخلية الأم والخلية الابنة .

3.2.4. الصفات الفسيولوجية للخمائر -

بالرغم من أن أنواع الخمائر قد تختلف كثيرا في فسلطتها ، إلا أن الخمائر ذات الأهمية الصناعية لها من الصفات الفسيولوجية العامة ما يصحح بتصميم ذلك ، مع الأخذ بنظر الاعتبار وجود بعض الاستثناءات •

إن معظم الخمائر المألوفة تنمو بصورة جيدة في وجود أملاح وفير ومتيسر من الرطوبة • إذ تنمو الخمائر في وجود تراكيز كبيرة من المذابات (كالمسك أو الملح) وهذا يشير إلى أنها تحتاج إلى رطوبة أقل من غالبية البكتيريا • ومع ذلك تتطلب معظم الخمائر رطوبة أكثر مما تتطلبه الأعفان • وعلى أساس النشاط المائي μ اللازم للنمو ، يمكن القول بأن الخمائر تمد اعتيادية إذ نمت في بيئات ذات تراكيز واطئة من المذابات أي في نشاط مائي μ عال •

إن أقل مستو من μ للخمائر الاعتيادية المختبرة يتفاوت بين 0.88 — 0.99. والامثلة الممنوعة لأقل μ هي 0.94 لخميرة البيرة و 0.90 للخميرة الممزولة من العليب المكثف و 0.905 لخميرة التياز • وفي المقابل فإن الخمائر المحبة للضغط الأزموزي Osmophilic yeasts تنمو ببطء في بيئات لها نشاط مائي μ واطي بقدر 0.62 — 0.65 كما هو الحال في الشراب المركز ، بالرغم من أن بعض الخمائر المحبة للضغط الأزموزي قد اوقفت عند نشاط مائي قدره 0.78 تقريبا في كلا المحاليل المركزة المحبة والمكثفة • ولكل خميرة نشاطها المائي الأمثل μ ومدى من النشاط المائي للنمو تحت ظروف بيئية معينة • إذ تختلف قيم μ مع الخواص التذوقية للمواد المتخفية والـ pH ودرجة الحرارة وتيسر الأوكسجين ووجود أو غياب المواد المثبطة •

وبصورة عامة يكون مدى درجات الحرارة لنمو معظم الخمائر مماثلا للنمو الذي تنمو فيه الأعفان ، وتتفاوت الدرجات المثلى بين 25 — 30 م والقصى بين 35 — 47 م • وبعض الأنواع القدرة على النمو عند درجات الصفر الشوي أو أقل منه •

وتفضل معظم الخمائر وسطا حامضيا لمتوسطا ويتفاوت المدى الأمثل بين 4.0 — 4.5 ولكنها لا تنمو في الأوساط القلوية أو التي يتسم قوامها بالحيوية العالية

ذلك •

وبصورة عامة تمد السكريات أفضل غذاء للخمائر من أجل الطاقة ، رغم ان
 الخمائر التاكسدية مثل الخمائر الفشائية تؤكسد الاحماض العضوية والكحول .
 وقد يحدث هدم السكريات كالجلكوز لا هوائيا (تخمر) او هوائيا (تنفس) .
 الا ان العملية النموذجية هي الهدم اللاهوائي الذي يعرف بالتخمر الكحولي حيث
 ان النواتج النهائية هي الكحول الايثيلي وثاني اوكسيد الكربون :



ويحدث هذا التخمر عن طريق دورة التحلل الجلايكولي التي سيتم توضيحها
 فيما بعد . وتحت الظروف اللاهوائية ، يتضمن الهدم استغلال الاوكسجين الجوي
 بعدة مسارات . في عملية التنفس ، تحللي الاكسدة التامة للجلكوز ثاني اوكسيد
 الكربون والماء ، بينما تترافق الاكسدة غير التامة مع تراكم الاحماض والنواتج
 الوسطية الاخرى . ومن احدى المسارات الرئيسية هي دورة حامض ثلاثي الكربوكسيل
 وسيتم توضيح الاهمية الفسيولوجية للاكسدة اللاهوائية والهوائية في صيغ طاقة
 وبشيء من التفصيل فيما بعد .

ان الذي يهمنا في هذا المجال هو بعض المنتجات المهمة التي يتحصل عليها
 من العملية التخمرية مثل الكحولات والاحماض والاسترات والجليسرول
 والالدهيدات .

ان العملية التخمرية هي لا هوائية اساسا ، واذا تمت تهوية المزارع خلال
 النمو فان التخمر يتوقف في صالح المسارات التاكسدية . وقبل ان تقوم الخميرة
 بتخمير السكريات الثنائية او الثلاثية او المتعددة ينبغي اولاً تحليلها مائياً بواسطة
 الانزيمات (انزيمات التحلل المائي هيدروليزات) . ونظرا لاختلاف انواع
 الهيدروليزات المنتجة من قبل الخمائر تبعا للجنس او النوع ، فان هذه الصفة قد
 استخدمت للفرقة بين الانواع . وتمد الخمائر مصدرا غنيا بالانزيمات الاخرى
 مثل لاكتيز وانفرتيز وكثاليز المهمة تجاريا .

وبصورة مماثلة ، ففي العملية التنفسية هناك اختلافات في المركبات التي
 يمكن تحليلها بواسطة انواع مختلفة من الخمائر . اذ يمكن لبعض الخمائر الاستفادة

من البنزول (D - ذابلوز ، (D - دايبوز) ، والسكريات القصدة (النشا) ،
والكحولات السكرية (مانيتول ، سوربيتول) ، والاحماض العضوية (لكتيك ،
جليك ، ستريك) ومركبات عضوية أخرى .

وتحصل الخمائر على النتروجين اللازم في أعضائها لتخليق البروتين من
المصادر العضوية واللامضوية ، وتتمكن معظم الانواع من الاستفادة من ايون
الامونيوم . ان الاختلافات في قدرة الخمائر على استخدام النترات والنتريت وفي
ازالة مجموعة الامين من الاحماض الامينية تساعد في التفرقة بين السلالات او
الانواع .

ويمكن ايفاء احتياجات الخمائر من الكبريت بواسطة تيسر الكبريتات في
المواد المغذية ، الا ان بعض الخمائر تتشجع في وجود الكبريت العضوي مثل
السيستاتين والميثيونين . وتعد المصادر ضرورية لنمو الخمائر وهذه تشمل
البوتاسيوم والمنيسيوم والصوديوم والكالسيوم . كما تحتاج الخمائر الى وجود
بعض العناصر النادرة أو الفسيلة مثل البورون والنحاس والزنك والمنغنيز والحديد
والليود والموليبدنوم لاعطاء افضل حاصل في البيئة المخلقة .

5. البكتريا Bacteria

ان تصنيف وتشخيص البكتريا خارج عن نطاق هذا الكتاب . وينتهي مراجعة
الموضوع في الكتب المتخصصة بصورة أوسع وأشمل ، غير اننا سنذكر بإيجاز
بعض الصفات المورفولوجية والفسيولوجية للبكتريا مع فكرة أولية عن تقسيمها .

بالرغم من وجود الاف الانواع من البكتريا فان الخلايا الفردية لها ثلاثة
اشكال عامة هي : اهليجية أو كروية ، واسطوانية أو عضوية ، وحلزونية أو
لولبية . علاوة على ذلك فان خلايا بعض الانواع البكتيرية تنظم نفسها في تجمعات
مختلفة منها التجمعات الزدوجة أو المتعددية أو السببية .

وعموما فان الخلية البكتيرية لا تختلف كثيرا من ناحية التركيب النطوي من
خلايا الكائنات الحية الوحيدة الخلية . ولما كانت الخلية البكتيرية صغيرة جدا فان
البعض يمكن رؤيته مجهريا بعد معاملته معاملة خاصة ، وذلك باستخدام الاصباغ
التفريقية الخاصة للتعرف على اجزاء الخلية المختلفة ، الامر الذي لا يتيسر عند

الفحص بالمجهر الالكتروني الذي تستعمل فيه هينات جافة من خلايا غير مصبوبة .
 وتعد البكتريا الحقيقية *Tubacteria* من أبسط البكتريا جميعا من حيث
 شكل خلاياها وتركيبها الظاهري . فهي تشمل البكتريا غير النيطية فهي المخلقة
 ضوئيا والتي تتميز خلاياها بجدرانها الخلوية الصلبة . ولا يزيد قطرها من 2-3
 ميكرومتر ويتحرك بعضها حركة دورية او لولبية في حين يتحرك البعض الآخر
 حركة رجوية . وتمتلك معظم البكتريات المتحركة اعضاء متحركة دقيقة تسمى *Flagella*
 او تركيبات خيطية قصيرة تسمى *Fibrils* . ونادرا ما يهاهد
 تراوج جنسي في البكتريا ، ويكون الانقسام النووي بواسطة الانقسام ولين
 بواسطة الانقسام العادي *Mitosis* كما لا تكون مادتها النووية مغلقة بفشام
 نووي .

ومن الناحية الاخرى ، هناك بكتريا اخرى غير البكتريا الحقيقية مثل بكتريا
Pleuropneumonia التي تكون اجساما ثمرية بحيث ان بعضها يسمى بالعين
 المجردة . وبعض منها يشبه البروتوزوا مثل *Spirochetes* . والبعض الاخر يشبه
 الامفان مثل الاكتينوميستات *Actinomycetes* واخرى تشبه الطعالب مثل
Beggiatoa . وهذه المجموعات المختلفة في صفاتها المورفولوجية والفسيولوجية
 والبيئية لها صفات الخلايا البدائية النواة *Procaryotic cells* اي ليس هناك
 غشاء يحيط بالمادة النووية مما ادى الى وضعها في مملكة بدائيات النواة
Procaryotae .

1.5. الصفات المورفولوجية :-

يعد الفحص المجهرى اول خطوة في تشخيص البكتريا والتعرف عليها وذلك
 لمعرفة شكلها وحجمها وتجمعاتها وتركيبها وتفاصيل تصنيفها . وفيما يلي بعض
 هذه السمات ذات الهمية الخاصة :

1.5.1. تكوين الاغلفة اللزجة — Encapsulation

يحاط الجدار الخلوي احيانا بغلاف لزج *Capsule* ، اعمدا في مقاومة
 الظروف البيئية القاسية مثل الحرارة والمواد الكيميائية . ويتكون هذا الغلاف من
 سكريات متعددة كالدكسترين والديكستران والليمان .

٢٤٤ تكوين السبورات الداخلية — Endospores

تتشترك البكتيريا من اجناس *Bacillus* و *Clostridium* و *Sporolactobacillus* و *Desulfohalobium* (حمضيات) و *Sporosarcina* (كرويات) في القدرة على تكوين سبورات داخلية مقاومة للحرارة والاشعة فوق البنفسجية والتجفيف . وعند تحلل الخلايا الخضرية تنطلق هذه السبورات التي تبقى في حالة سكون وبدون اي نشاط ابيضي ملحوظ لمدة سنوات .

ومادة تظهر عملية تكوين السبورات في طور النمو اللوغاريتمي المتأخر بسبب دخول المواد الغذائية أو تكديس النواتج . وخلال هذا التحول من الخلية الخضيرة إلى السبور ، يصبح السبور أكثر قدرة على كسر الضوء Refractile ويحدث انحصار كجهد لآيسينات الكالسيوم وتخليق لحامض داي بيكولينيك *Dipicolinic acid (DPA)* وهو المعد الذي تفتقده الخلية الخضيرة . ان اكتساب السبور المتكون للمقاومة الحرارية ينسب الى تكوين DPA وامتصاص ايونات الكالسيوم .

ويتشجع الانبات بواسطة الظروف التي تكون مناسبة لنمو الخلايا الخضيرة ولكنه قد يحدث تحت الظروف التي لا تسمح بمثل هذا النمو كدرجات حرارة منخفضة . وقد يحدث بواسطة خليط من الاحماض الامينية ، وبايونات Mg^{2+} و Mn^{2+} ، وبالجلوكوز ، وبحامض داي بيكولينيك مع ايونات الكالسيوم ، وبالصدمة الحرارية أو التنشيط الحراري ، الذي ينشط الانزيمات الساكنة . وتعتمد درجة الحرارة المثلى وكذلك المدة الزمنية للصدمة الحرارية على نوع السبور ، فالمعاملة الحرارية تكون أعظم في سبورات البكتريا المحبة للحرارة العالية *Thermophiles* من تلك المستخدمة في سبورات البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة *Mesophiles* . وينشط الانبات بواسطة حامض السوربيك في وسط حامضي ، والكاتيونات الثنائية ، والنشا ، وحامض الاوليك والليخوليك .

وتعرف حالة سكون *Dormancy* السبورات بانها الانبات المتأخر تحت الظروف المخفضة لها . ومع ذلك قد تفشل السبورات في الانبات ومن المحتمل ان

يكون السبب هو الظروف غير المناسبة كالتغيرات في البيئة أو النقص في المغذيات الأساسية مثل الأحماض الأمينية . وقد تثبت بعض البورات ولكنها تفضل في النمو وقد يكون بعضها قد تلف بالحرارة أو الأحماض أو العوامل الأخرى لذلك فهي تحتاج الى بيئة أكثر تعقيدا أو تخصصا للنمو من سابقتها .

3.1.5 تكوين التكتلات الخلوية Cell Aggregation -

لبعض أنواع البكتريا خاصية تكوين سلاسل طويلة وللبعض الآخر خاصية تكوين تكتلات تحت ظروف معينة . وبصورة عامة يصعب فصل جميع البكتريا الموجودة في سلاسل مظفرة أو في تكتلات كبيرة ويسهل قتلها عندما تكون في حالة خلايا مفردة .

3.2 الصفات الفسيولوجية :-

أكثر ما يهم المتخصصين في علم الأحياء المجهرية عند دراستهم للبكتريا طريقة نموها ونشاطها في الأوساط الغذائية والتغيرات التي تحدثها . وتشمل هذه التغيرات التحلل المائي للكربوهيدرات المتقدمة الى مواد بسيطة ، والتحلل المائي للبروتينات الى الببتيدات المتعددة والأحماض الأمينية والأمونيا أو الأمينات ، والتحلل المائي للدهون الى الجليسرول والأحماض الدهنية . وتستفيد البكتريا من تفاعلات الأكسدة والاختزال في الحصول على الطاقة من المواد الغذائية (الكربوهيدرات ومركبات كربونية أخرى ومركبات الكربون - النتروجين البسيطة وغيرها) لتمثيل منتجات مثل الأحماض المضوية والكحولات واللدھيدات والكيتونات والفولات .

3.3 تكاثر البكتريا :-

ان نمو وانقسام الخلايا البكتيرية يمثل عملية دورية فيشكل خلية جديدة تتكون ، تصبح ذات قدرة على التكاثر بمعنى أن الخلايا الجديدة الناتجة من الانقسام تمتلك الخصائص الفسيولوجية التي كانت تميز آباءها القادرة على التكاثر .

وقد أظهرت الدراسات ان نمو الخلايا قبل الانقسام يؤدي الى زيادة في طولها

ومع الزيادة في كمية السايٲوبلازم تتكون بالخلية المقعدة على الانقسام كمية من المحتويات النووية تكفي لخليتين • وعقب زيادة الخلايا المقبلة على الانشطار **Fission** في الحجم تبدأ في الانقسام الى خليتين ، حيث تنقسم نتيجة لنمو حاجز حرصي يتكون من مادة الجدار الخلوي ناشئا من منطقتة وممتدا بداخل الخلية حتى يفصلها الى خليتين وان الجدار المتكون لا يثبت ان يزدوج ليسهل انفصال الخلايا الجديدة المتكونة •

وهناك بعض البكتريا تتكاثر بطرقة التبرعم **Budding** التي تميز تكاثر الخمائر ، في حين تتكاثر بعض المجاميع البكتيرية بواسطة تجزؤ خطوطها طوليا الى وحدات صغيرة جدا والتي بنموها تعطي نموا خيطيا طبيعيا من جديد كما في الاكتينوميستيتات •

وقد كان يعتقد الى عهد غير بعيد ان الانشطار الثنائي **Binary fission** هو الطريق الوحيد لتكاثر البكتريا اذ لم تشاهد حينئذ قدرة البكتريا على التكاثر الجنسي • وقد امكن حديثا اثبات حدوث التكاثر الجنسي في البكتريا وذلك من طريق مشاهدة انتقال صفات الاباء الى الاجيال المتعاقبة • ويشترط لظهار هذا الانتقال في الصفات الوراثية استعمال آباء مختلفة في واحد أو أكثر من الصفات الثابتة • ونظرا لكون هذا الموضوع خارج نطاق الكتاب العالي فاننا ننصح القاريء بالمودة الى المراجع المتخصصة به لزيد من المعلومات والتفاصيل •

4.5 تقسيم البكتريا :-

وكما ذكرنا لن ندخل في تقسيم البكتريا بشكل تفصيلي ولكننا سنلقي نظرة عامة على التقسيم الحديث للبكتريا • من الانسب تنظيم تقسيم البكتريا في نظام مرتب تسلسليا للنوع التقليدي • وبصرف النظر عن خاصية المشاطرة الاسامية لتنظيم الخلايا البدائية النواة فان البكتريا هي مجموعة ذات اختلاف كبير جدا ، وان أحدها لا يمكن ان يرتبط بالآخر من النواحي التركيبية والوظيفية • وعليه لم تنجح اية محاولة من المحاولات لتلويز تقسيم مرتب تسلسليا وبشكل كامل لهذه الاحياء • وفي الطبقات المتعاقبة من المرجع التقسيمي المعروف **Bergey's Manual** الذي يمد البحث الرئيس عن تصنيف البكتريا منذ طبعته في عام 1923 ، نفهر

تركيب وترتيب المجموعات التصنيفية الاعلى (الرتب Orders والمائلات Families والفصائل Tribes) بشكل جوهري في كل طبعة لاحقة . وفي آخر طبعة لهذا المرجع (الطبعة الثامنة لعام 1974) تم تبني طريقة تجريبية بدرجة اكبر . اذ قسمت البكتيريا الى 19 قسما Parts ، كل منها قابل للتمييز بواسطة عدد بسيط من المعايير السهلة التحديد وكل منها يحمل اسما دارجا . والاجناس في بعض الاقسام موضوعة ببساطة في ترتيب اعتباطي ، في حين جمعت هذه الاجناس في اقسام اخرى في عائلات واحيانا في رتب . وهذا الترتيب هو في الواقع ترتيب تسلسلي جزئي . ومن الصعوبات المرضية التي تنشأ من هذا الترتيب التسلسلي بين البكتيريا هو ان اقساما عديدة جمعت فيها الاجناس في عائلات ، تضم ايضا ملاحق ممنونة باسم اجناس غير محددة النسب أو الاصل Genera of Uncertain Affiliation ومتألفة من اجناس لا يمكن ان تناسب الترتيب التسلسلي المحدد والمستخدم في التقسيم .

وبقدر ما هو هدف Bergey's Manual تسهيل التعرف على البكتريا ، فانه يعني بقدر قليل كيفية ترتيب الاجناس المكونة ، بشرط تيسر نظام تعرف وتشخيص كفؤ لتحديد موقع جنس كائن مجهول . ان المفتاح المتعدد المفصل لهذا الغرض موجود في الطبعة الثامنة لهذا المرجع التقسيمي والذي يعد من احد معالم الميزة المهمة . وفيما يلي التنظيم العام المختار في الطبعة الاخيرة من Bergey's Manual :
 مملكة بدائيات النواة Kingdom : Procaryotae

Division I. Cyanobacteria (not further treated)

Division II. Bacteria البكتريا

Part 1. Phototrophic Bacteria البكتريا المثلة للضوء

رتبة واحدة ، 3 عائلات ، 18 جنسا .

Part 2. Gliding Bacteria البكتريا المنزلقة

رتبتان ، 8 عائلات ، 21 جنسا ، وايضا 6 اجناس غير محددة النسب .

Part 3. Sheathed Bacteria البكتريا ذات الغلاف

7 اجناس .

Part 4. Budding and/or Appendaged Bacteria البكتريا المتبرعمة والمعديلة

17 جنسا

Part 5. Spirochaetes

البكتريا الحلزونية

رتبة واحدة ، عائلة واحدة ، 5 أجناس .

Part 6. Spiral and Curved Bacteria.

البكتريا اللولبية والمنقوسة

عائلة واحدة ، جنسان ، وايضاً 4 أجناس غير محددة النسب .

Part 7. Gram-Negative Aerobic Rods and Cocci.

عصويات وكرويات هوائية سالبة للجرام .

5 عائلات ، 14 جنساً ، ايضاً 6 أجناس غير محددة النسب .

Part 8. Gram-Negative Facultatively Anaerobic Rods.

عصويات اللاهوائية اختيارية سالبة للجرام .

عائلة واحدة ، 17 جنساً ، ايضاً 9 أجناس غير محددة النسب .

Part 9. Gram-Negative Anaerobic Bacteria.

بكتريا لاهوائية اختيارية سالبة للجرام .

عائلة واحدة ، 17 جنساً ، ايضاً 6 أجناس غير محددة النسب .

Part 10. Gram-Negative Cocci and Coccobacilli.

كرويات وكرويات عصوية سالبة للجرام .

عائلة واحدة ، 4 أجناس ، ايضاً جنسان غير محددتي النسب .

Part 11. Gram-Negative Anaerobic Cocci.

كرويات لاهوائية سالبة للجرام .

عائلة واحدة ، 3 أجناس .

Part 12. Gram-Negative Chemolithotrophic Bacteria.

عائلتان ، 17 جنساً .

Part 13. Methane-Producing Bacteria.

البكتريا المنتجة للميثان .

عائلة واحدة ، 3 أجناس .

Part 14. Gram-Positive Cocci

كرويات موجبة للجرام .

3 عائلات ، 12 جنساً .

Part 15. Endospore-Forming Rods and Cocci.

عصويات وكرويات مكونة للسبورات الداخلية .

عائلة واحدة ، 5 أجناس ، ايضاً جنس واحد غير محدد النسب .

Part 17. Gram-Positive Asporogenous Rod-Shaped Bacteria.

البكتريا ذات الشكل العصوي غير المكونة للспорات الموجبة للصبغ
عائلة واحدة ، جنس واحد ، أيضاً 3 أجناس غير متطرفة النسيج .

Part 18. Singly-stained and Related Organisms.

الكبدية ميسيرية والأشوا القوية منها .

4 أجناس لم تنزل إلى عائلة ، عائلة واحدة ، 10 أجناس ، رتبة واحدة مع 8 عائلات ، 31 جنساً .

Part 19. Bicketisios.

الريكتيريات .

ريكت ، 4 عائلات ، 18 جنساً .

Part 20. Microplasmas.

صيف واحد ، رتبة واحدة ، عائلات 1 ، جنسان ،

أيضاً جنسان غير معددي النسب .

لقد المجموعات البكتيرية المهمة في ميكروبيولوجي التغذية والميكروبيولوجي الصناعي لها
غالباً ما تصنف البكتيريا المهمة في الأهمية إلى مجموعات على أساس الصفات
المألوفة بنض النظر عن تقسيمها النظامي . ومن الواضح أن بعض الانواع البكتيرية
قد تضم في اثنين أو أكثر من هذه المجموعات المعطاة ، والأشكال عليها ما يلي :

1.1.5. البكتيريا المكونة لحمض اللاكتيك *Lactic Acid-forming Bacteria, or Lactics*

من أهم صفات هذه البكتيريا هي قدرتها على تخمير السكريات إلى حمض
اللاكتيك . وقد يكون ذلك مرغوباً في صناعة بعض المنتجات مثل البودينجات أو
الجبن ولكنه يعد غير مرغوب به في صناعة النبيذ . وبسبب إنتاجها للحمض
يسرعة عادة بمقادير كبيرة فانها تتخلص دائماً من منافسة الاحياء المجهرية .

الأخرى . وتضم الاجناس الرئيسية أفضياء لمائلتي *Lactobacillaceae*

و *Streptococcaceae* وعضوا *Leuconostes* و *Lactobacillus*

و *Streptococcus* و *Pediococcus* .

2.1.5. البكتريا المكونة لحمض الخليك *Acetic Acid-forming Bacteria, or Acetics*

تتميز معظم بكتريا حامض الخليك إلى أحد جنسين : *Acetobacter*

في *Glucanobacter* . يؤكد كذا الجنس الكامل الأولي إلى حامض الخليك .

للبروتين - حامضية Acid-proteolytic تكونها تجري تخمرا حامضيا وتحللا بروتينيا Proteolysis في وقت واحد فالبكتيريا *Streptococcus* وكذلك البكتيريا *Micrococcus* *Sacalis* var. *liquefaciens* في محلة للبروتين - حامضية . وتسبب بعض البكتيريا تحللا تخمريا Putrefaction اذ تحلل البروتينات لاهوائيا منتجة مركبات ذات رائحة كريهة مثل كبريتيد الهيدروجين والميركانات والامينات والانحول والاحماض الامينية . وتمت معظم انواع المحلة للبروتين العائدة الى الجنس *Clostridium* من النوع المسبب للتحلل التخففي كما هو الحال مع انواع *Proteus* *Pseudomonas* والاجناس الاخرى غير المكونة للمبورات .

5.5.5. البكتيريا المحللة للليبيدات Lipolytic Bacteria

وتعد هذه مجموعة غير متجانسة الانواع من البكتيريا المنتجة لانزيم الليپاز Lipase ، الانزيم المحفز للتحلل المائي للدهون الى احماض دهنية وجليسرويل . ان العديد من البكتيريا المحللة للبروتين النشطة الهوائية لها القدرة على تحليل الليبيدات . وعلى سبيل المثال لبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* قدرة عالية جدا على تحليل الليبيدات . كما تحتوي اجناس *Alcaligenes* *Serratia* و *Micrococcus* انواعا تحلل الليبيدات .

7.5.5. البكتيريا المحللة للسكري Saccharolytic Bacteria

تحلل هذه البكتيريا مائيا السكريات الثنائية أو السكريات المتعددة الى سكريات بسيطة . ولعدد محدود من انواع البكتيريا قدرة تحليل الاميلوز أو الاميلوبكتين أي أنها تمتلك انزيمات الاميليزات Amylases لتحليل النشا مائيا خارج الخلية . وتعد بكتيريا *Bacillus subtilis* وكذلك *Clostridium butyricum* من النوع المحلل للنشا . ولعدد ضئيل من الانواع البكتيرية القدرة على تحليل السيليلوز مائيا . وتصنف انواع جنس *Clostridium* أحيانا الى محللة للبروتين وقد تستطيع أو لا تستطيع مهاجمة السكريات ، أو قد تصنف الى محللة للسكريات بحيث تهجم السكريات ولا تهجم البروتينات . فمثلا *Clostridium* *Lentoputrescens* تحلل البروتين وعادة لا تخمر

الكربوهيدرات ، في حين *Clostridium butyricum* لا تهاجم البروتين ولكنها
تفرض السكريات .

3.5.5. البكتيريا المحللة للبكتين Pectolytic Bacteria

البكتينات هي من الكربوهيدرات المعقدة وتوجد في الخضراوات والفواكه ،
ويعد خيط من الانزيمات الحاملة للبكتين يطلق عليه بكتينيزات Pectinases
مسؤولا عن طراوة الانسجة النباتية أو فقدان القوة التهليمية لمصائر الفاكهة .
وهناك بعض البكتريات (فضلا عن الامفان) لها القدرة على تحليل البكتين منها
انواع الاجناس *Erwinia* ، *Bacillus* ، و *Clostridium* .

3.5.6. البكتيريا المحبة للمحاليل الملحية المراكزة

— Halophilic Bacteria, or Halophiles

تحتاج البكتيريا المحبة للمحاليل الملحية الى تراكيز دنيا متوسطة من كلوريد
الصوديوم المذاب لكي تنمو . ان منتجات الملح للنمو الممثل يكون اوطأ بالنسبة
للبكتيريا المحبة باعتدال للمحاليل الملحية (5—20%) مما في البكتيريا المحبة جدا
للمحاليل الملحية (20—25%) . وتسمى بعض البكتيريات التي تنمو بشكل جيد
في بيئات تركيزها المائي 5—10% بالبكتيريا المحبة قليلا للمحاليل الملحية . في
حين البكتيريا الاخرى هي متفردة المحبة للملح ان يمكنها ان تنمو بوجود الملح أو

بدونه . وتوجد مثل هذه الانواع البكتيرية في الاجناس *Sarcina*, *Halobacterium*

Alcaligenes, *Pediococcus*, *Vibrio*, *Pseudomonas* ,

3.5.7. البكتيريا المحبة للمحلول الايزوني أو التركيز العالي من السكر

— Osmophilic, or Saccharophilic Bacteria

ان هذه البكتيريا تنمو في قراكم عالية من السكر ولكن معظم البكتيريا التي
يطلق عليها اسم المحبة للمحلول الايزوني Osmophilic هي مقاومة للسكر فحسب
مثل انواع *Leuconostoc* .

6. الطحالب Algae

تضم الطحالب طفاوة برك الماء العذب ، والصيغ الخضراء على الصغور الرطبة
وجذوع الانهار ، والطحالب البحرية النيرية في المحيطات . وبساطة الطحالب فقد
منها بعض الجيولوجيون في الساكنة النباتية والمبيض الاخرى هي سيطرة الاوليات
Protists . الطحالب القادرة على التواجد في اماكن رطبة لمحي غيرنا من

الانحياز ان تتواجد فيها مثل المناطق الحارة او المناطق المتجمدة القطبية ، او في
 بيئات المياه العذبة او البحرية . معظم الطحالب انحاء حرة في التكاثر منها له ارتباط
 صيحي مع احياء اخرى كعكالات (في الانبات *Epiphytes*) او كمتطفلات .
 الطحالب موزعة من الانعام *Divisions* تظهر اختلافات ذات بين احياء وحيدة
 الخلية صغيرة بقدر اكبر ظاهرة بكثيرة الى احياء مختلفة خلايا كاعشاب
 البحر . فهي لا تثنى في الانماء الطبيعية كمتوفات اربعة اقسام الحياة المائية
 وكثيريات الازوكسين الكون . فالطحالب البائية (البلانكتونية) البحرية التي
 تسمى غساق البحر تغفل حوالي 500 من فصائل الطحالب الخروئي على وجه
 الارض . فمفرد الطحالب البحرية الكبرية هي مصدر الغذاء لبعض ، والحشائش
 الاخرى ، والنباتات البحرية ذات الانحياز السطحي . ونظرا لوجود الطحالب بشكل
 مألوف على سطح الماء ، فانها غالباً ما تعتبر مغذيات في المصادر المائية مغذية روائح
 فهي تتحلل وتطعمها سمكها مع خلق اجزاء التربة . ويسبب زيادة المغذيات المعدنية
 التي يمكن استخدامها كغذاء من قبل الطحالب ، فان العديد من البراء والبحيرات
 قد أصبحت مغطاة بكثافة توجب لانتشار المذرع النامي من الطحالب . والطحالب
 على ارض البراء والكثيرة والخضار والامعان ذات أهمية كبيرة البيولوجيين لكون الخلايا
 الخلية الفردية كانتات كاملة قادرة على القيام بعملية التخليق الخروئي وتخليق
 عدد كبير من المركبات الاخرى التي تؤلف الحياة .

كذلك الصفات العامة للطحالب

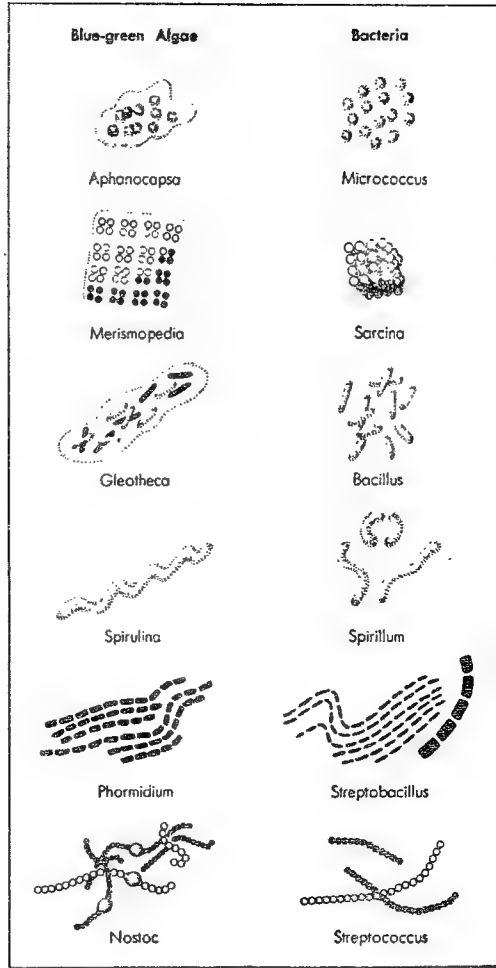
بالرغم من وجود عدد من الطحالب البسيطة اللون ، فان الطحالب تحتوي
 مادة على الخضاب الاصفر كلوروفيل ا فضلا من خضاب آخر .
 وليس للطحالب جذور او سيقان او اوراق كما هو الحال مع النباتات الراقية
 الا ان بعض الطحالب البنية والحمراء تظهر ما يشبه السيقان والاوراق .
 ولا توجد في الطحالب انسجة حقيقية اطلاقاً وخصوصاً المرشمية منها ، رغم ان
 بعض الى *Thalli* وخصوصاً في الطحالب البنية تكون متفردة .

2.1.2 الصفات المورفولوجية

تختلف الطحالب في الحجم بين 3 ميكرونات الى 62 متراً ، ومنها ما
 يتراوح 25000 نوع . واسمائها يصنفها احياء بحرية يفرق الطحالب بسبب كونها

تكون : أ) بسيطة أو مركبة - وتكون البسيطة أو المركبة في الشكل إلى عناصرها
ب) متجانسة أو غير متجانسة - وتكون المتجانسة أو غير المتجانسة في الشكل إلى عناصرها
ج) متجانسة أو غير متجانسة - وتكون المتجانسة أو غير المتجانسة في الشكل إلى عناصرها
د) متجانسة أو غير متجانسة - وتكون المتجانسة أو غير المتجانسة في الشكل إلى عناصرها

[illegible][illegible]



الشكل (2.1) التشابه المورفولوجي بين الطحالب الخضراء الزرقاء والبكتيريا

هذه الاختصة بانتظام خلال البروتوبلاست • وتسمى الطحالب المتحركة بالطحالب السابحة حيث لها أسواط مفردة أو في أزواج أو تجمعات عند النهايات الأمامية أو الخلفية من الخلية • وقد لا تمتلك بعض الطحالب ومائل متحركة لذلك فهي تنتقل بواسطة المد والجزر والأمواج والتيارات • وتكون الخلايا التكاثرية اللاجنسية في بعض الطحالب مثل السبورات السابحة والامشاج هي المتحركة فتسحب •

أما أن تتكاثر الطحالب جنسيا أو لا جنسيا • وتتميز بعض الأنواع بطريقة واحدة فقط ، إلا أن العديد من الطحالب دورات حياة معقدة تستخدم كلا طريقتي التكاثر السابقين •

تتضمن طريقة التكاثر اللا جنسي في الطحالب ، النوع الخضري المبرد من الانقسام الغلوي الذي تتكاثر بواسطته البكتريا • وقد يبدأ خيط أو مستعمرة طحلب جديد من جُزء مكسور من طحلب متعدد الخلايا قديم • ومع ذلك فسان التكاثر اللا جنسي في الطحالب هو أكثر تمقيدا من هذا ويتضمن إنتاج مسجورات وحيدة الخلية يحتوي العديد منها ، وخاصة تلك التي في الصور المائية ، على امواط تتحرك بواسطة قدمي هذه المسجورات بالمسجورات السابقة Zoospores. أما المسجورات غير المتحركة التي تعرف بـ Aplanospores فمن المرجح أن تتكون بواسطة الأنواع البحرية من الطحالب • ويطلق على الخلايا النباتية التي تنتج هذه المسجورات المرافط المسجورية Sporangia •

إن جميع صور التكاثر الجنسي قد وجدت بين الطحالب • وفي هذه الملاحظات هناك تزاوج بين الخلايا الجنسية التي تسمى الأمشاج Gametes لتكوين اتحاد يحدث فيه خلط المادة النووية قبل تكوين الأجيال الجديدة • وينتج عن اتحاد الأمشاج تكوين اللازمة Zygote ، وإذا كانت هذه الأمشاج متماثلة أي لا توجد أية فروقات جنسية ملحوظة فإن العملية تسمى اتحاد الأمشاج المتماثل Isogamous. وعندما يتزاوج مشيجان مختلفان (ذكر وأنثى) تسمى العملية اتحاد الأمشاج المتماثل Heterogamous • ويتقدمنا نحن الصور الراقية من الطحالب ، وليس بالضرورة الكبرى ، تصبح الخلايا الجنسية ذكرا وأنثى على نحو مميز • وتكون البضة Ovum (خلية بيضية أنثوية) كبيرة وغير متحركة والمشيج الذكري (الخلية النورية) صغيرة ومتحركة بنشاط • وتوجد أيضا الـ Thalli التي هي على وجه العمى ذكور أو أناث • ورغم أن جميع النباتات قد تبدو متشابهة إلا أنها من أنواع جنسية متعاكسة نظرا لأن أحدها ينتج أمشاجا ذكوريا والآخرى أنثوية •

تصنف بعض النباتات تسمى أحادية الجنس Unisexual أو منفصلة الجنس Coenous ، والنباتات التي أمشاجها من واحدة فردية ذاتها يقال عنها ثنائية الجنس Biserual أو لهادية الجنس Monociera •

2.6 تصنيف الطحالب

يختلف المنصفون في تفاصيل تصنيف الطحالب ، وبصورة عامة يتقسم طحالب
النبات الطحالب على أساس :

- (1) التركيب الكيميائي ودرجات البنية .
 - (2) نوع التكاثر الجنسي والجنس في الخلايا .
 - (3) طبيعة حساب النخيل النووي الموجودة في البلاستيدات (أي الاختلافات في
أنظمة الكلوروفيل والكاروتينويد والبيكوبوتين) .
 - (4) الصفات المورفولوجية للخلايا والد Thalli .
- فالطحالب الخضراء الزرقاء Cyanophyta التي تختلف عن جميع الطحالب في
انتقالها الى أغشية التواء والماتريكويدريا والكاروبلاست ، توضع عادة مع
لبكتريا في مجموعة لما ان يطلق عليها Monera أو Procaryota .
- والذين يترقبون بال Monera يضمون الطحالب مع البيريوكلزوا Monera
في ملكة الاوليات Protozoa ، والذين يترقبون بالاحياء النباتية السوداء
Protista يضمون الطحالب مع جميع النباتات الاخرى في قسم الاحياء
الحقيقية التواء Eucaryota .

وقدما يلي أهم الصفات المميزة للأقسام الرئيسة من الطحالب :-

1. Division Cyanophyta (blue-green algae)

وتعرف بالطحالب الخضراء الزرقاء ، وهي نباتات وحيدة الخلية طفيلية تتواجد
في مستعمرات ، تظهر لوجود التواء أو الماتريكويدريا ، المادة النووية متحركة
ظاهريا ، تنح صفائح الخلية النووي في السايكوبلازم الخارجي ، يتعدد اللون
بنسب كلوروفيل ا والكاروتينويدات والبيكوبوتينات ، تتكون جدرانها الخلوية
اساسا من الاغصان الاصلية والسكيات الاصطناعية ، ناتج التخليق النووي هو
نشا سيانوفايكس Cyanophyceean starch ، التكاثر الخضري أو اللا جنسي
بالانقسام البسيط ، ثم التكاثر أو الميسورات الخارجية أو الداخلية .

قسم 5 رقم

2. Division Chlorophyta (green algae)

وتعرف بالطحالب الخضراء ، وهي طحالب وحيدة أو متعددة الخلايا تتواجد في مستعمرات ، أحادية النواة أو متعددة النوى ، أخضبتها تلبه أخضبة النباتات الراقية ، جدرانها الخلوية من السيلولوز ، تخزن الغذاء كنشا • تضم 3 صفوف و 14 رتبة •

3. Division Euglenophyta (euglenoids)

وتعرف باليرغلينا ، وحيدة الخلية ، تتميز بانتيوتات ، قد تحتوي على أخضبة مشابهة لما موجود في النباتات الراقية • تضم صفا واحدا و 6 رتب • يضمها البعض مع البروتوزوا •

4. Division Xanthophyta (yellow-green algae)

وتعرف بالطحالب الصفراء ، وحيدة الخلية ، توجد في مستعمرات ، خيطية ، لها كلوروفيل أ وكاروتينويدات خامسة ، متحركة بسوطين أحدهما قصير وأما السوط الآخر طويل ، مخزناتها النشائية هو الزيت أو الكريسولامينارين • Chrysolaminarin • تضم صفا واحدا و 6 رتب •

5. Division Chloromonadophyta

تضم صفا واحدا ورتبة واحدة • وقد يضمها البعض مع البروتوزوا •

6. Division Bacillariophyta (diatoms)

وتعرف بالطحالب الباعلية (أي الخبيطة جدرانها بالسليكا) ، وحيدة الخلية توجد في مستعمرات ، يتكون جدرانها الخلوية من نصفين وهو مبني من السليكا على قاعدة من البكتين ، كثيرة التفرع بالحروز أو الظم ، الاخضبة الرئيسة هي كلوروفيل أ و ج وفوكوزانتين Fucoxanthin ، ناتج تخليقها الضوئي الرئيس هو كريسولامينارين Chrysolaminarin • تضم صفا واحدا ورتبتين •

7. Division Chrysophyta (golden algae)

وتعرف بالطحالب الذهبية ، معظم خلاياها مفردة ، المديد منها بلا جدار سيلولوزي ، بعضها متصلب بالسليكا أو مشكل بالكالسيوم ، أخضبتها كلوروفيل

أ و ج وفوكوزانثين ، ناتج تخليقها الضوئي مادة كريسولامينارين ، تتكاثر بالانقسام الخلوي والسبورات السابحة Zoospores أو السبورات الساكنة Statospores .

تضم صفين و 7 رتب •

8. Division Pyrrophyta (dinoflagellates)

خلايا مفردة معظما متحرك ، بعضها خيوط قصيرة ، تتميز الخلايا بأسواط ، نوبها كبيرة ، أخضبتها ملسونة هي كلوروفيل أ و ج مع بيريدانين Peridinin ، ناتج تخليقها الضوئي هو النشا ، تتكاثر بالانقسام الخلوي أو السبورات السابحة أو اتحاد الأمشاج المتماثلة •

تضم صفين و 7 رتب •

9. Division Phaeophyta (brown algae)

وتعرف بالطحالب البنية ، يكون كلوروفيل أ و ج مغطيين بالفوكوزانثين . ترى بالعين المجردة ، تعيش في البحار ، جدارها الخلوي من السليلوز والبكتين •

تضم صف واحد و 13 رتبة •

10. Division Rhodophyta (red algae)

وتعرف بالطحالب الحمراء ، يكون الكلوروفيل مغطى بالبيليروبوتينات ، مادة ترى بالعين المجردة ، تعيش في البحار ، جدارها الخلوي من السليلوز والبكتين •

تضم صف واحد و 12 رتبة •

11. Division Cryptophyta

هدية اللون أو ملونة ، خضاب الملونة منها هو كلوروفيل أ و ج و زانثونيلاز وبيليروبوتينات مميعة ، مخزونها الغذائي يشبه النشا ، تتكاثر بواسطة الانقسام الطولي •

تضم صف واحد ورتبتين •

الفصل الثاني

أطوار نمو الأحياء المجهرية

Growth Phases of Microorganisms

1. التكاثف الخلوي

2. عشوائي التفتت

1.2. طور الركود

2.2. طور النمو اللوغاريتمي

3.2. الطور الثابت

4.2. طور تناقص النمو أو طور الموت

فالبزيمات الكبيرة التي لا يمكنها المرور خلال هذا الغشاء مثل السكريات المتعددة Polysaccharides والبروتينات تهضم خارجيا عن طريق انزيمات تفرزها الخلايا خارجيا لتحليل هذه المركبات المعقدة الى وحدات اصغر حجما مثل السكريات الاحادية أو الاحماض الامينية والتي لها قدرة اكبر على المرور خلال الغشاء السايترولازمي . والمكونات الاساسية في بناء البروتوبلازم الجديد ، أما ان تؤخذ مباشرة من المواد الغذائية الداخلة للخلية أو أن تتحول هذه المواد داخلها الى مواد أخرى أكثر ملاءمة لبناء البروتوبلازم .

ان تخليق البروتينات والكربوهيدرات والدهون والاحماض النووية الجديدة في الخلية يتطلب تجهيز عدد كبير من المواد الكيميائية التي تدخل في تركيب المواد المخلقة وترتب هذه المواد بطرق خاصة باختلاف نوع الكائن الحي المجهري . فالخلية الميكروبية اذن تنمو طبقا لنظام مرسوم ومحدد قبل انقسامها ، وان هذا النظام يتكرر بتكرار انقسام اجيالها المتعاقبة ما لم يحدث تغيير في جهاز الخلايا الوراثي . فالنظام الوراثي للخلايا هو الذي يتحكم اذن في كيفية تخليقها للمواد البنائية وفي درجة انقسامها .

2. معنى النمو Growth Curve

تعتمد طرق تقدير النمو الميكروبي كليا على طبيعة عمليات النمو نفسها بمعنى انها تعتمد على الزيادة في كمية البروتوبلازم الميكروبي أو في عدد الخلايا المتكونة نتيجة للتكاثر . وفي بعض الاحيان قد يمكن قياس نشاط واحد أو أكثر من النظم الانزيمية الخلوية بصفتها تمثل احد المكونات البروتوبلازمية .

ويقدر النمو كليا بطرق عديدة مبنية على الاسس الاتية :-

اولا- تقدير عدد الخلايا Cell Count مباشرة (باستخدام المجهر) أو بطرق غير مباشر (بإجراء عد المستعمرات) .

ثانيا- تقدير الكتلة الخلوية مباشرة عن طريق الوزن الرطب أو الوزن الجاف أو عن طريق تقدير كمية النتروجين الخلوي ، أو بطرق غير مباشر بتقدير درجة تمكين البيئة (وخاصة للاحياء المجهرية الوحيدات الخلية حيث تكون الكثافة الضوئية دالة على حجم وعدد الخلايا النامية والتي يمكن أن

تنسب الى الوزن الجاف) •

ثالثا - تقدير النشاط الخلوي وهي طريقة غير مباشرة لتقدير النمو وذلك بمقارنة النشاط الانزيمي المتحصل عليه بكمية النمو المراد قياسها •

ولقد وطرت الدراسات على نمو المزارع البكتيرية فرصة ممتازة لدراسة الاحياء المجهرية بشكل عام • فالخلية الميكروبية الواحدة تكفي لانشاء مجموع ميكروبي جديد • وهناك مجموعة من الطرق البحثية المختلفة تعتمد اعتمادا كلياً على هذه الحقيقة ، مثل طرق زرع الاحياء المجهرية ، وتقنية الانواع الميكروبية واستعمال الطفرات الكيميائية وايضاً سلالات مقاومة للمواد الكيميائية السامة •

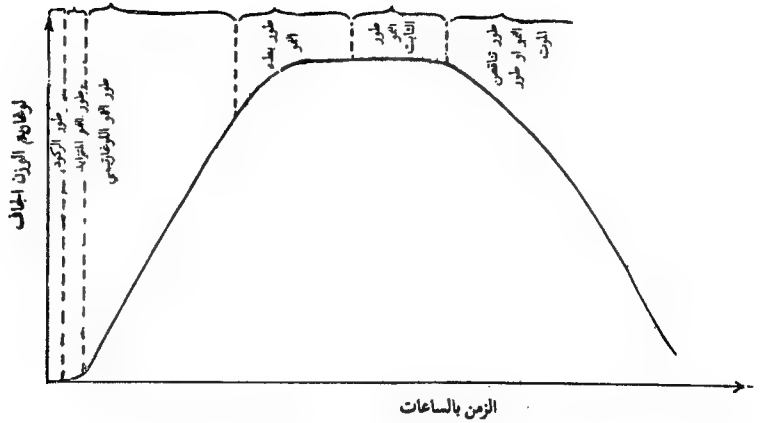
وهند تلقى بيئة غذائية بخلية ميكروبية واحدة فانها تبدأ في الانقسام الى خليتين وتستمر الخلايا الناتجة بالانقسام المتكرر • ويمرر الوقت الذي ينقضي بين تكوين الخلية وانقسامها على الانقسام بوقت الجيل Generation time . ان فترة وقت الجيل هذه تعتمد على عدة عوامل منها السلالة الميكروبية ، ودرجة وتركيب البيئة الغذائية ، ودرجة الحرارة ، وعمر المزرعة • وعموماً تتفاوت هذه الفترة في البكتريا تحت ظروف البيئة المثالية بين 20 دقيقة الى عدة ساعات • كما يمكن تحديد ما تحت ظروف معينة باستعمال مزارع ميكروبية نقية •

وعندما يرسم لوغاريتم الوزن الجاف لكائن حي مجهرى وسعيد الخلية نام في بيئة مشغورة مع الزمن يتحصل على منحنى متميز ، ويتعدد الشكل التفصيلي له بنوع الكائن الحي المجهرى وبالظروف البيئية (الشكل (1.2)) •

يلاحظ من المنحنى ان الكائن الحي المجهرى يتوقف من الانقسام لفترة عقب تلقيح البيئة الغذائية وتسمى هذه الفترة طور الركود Lag phase • وبعد انتهاء هذا الطور تبدأ الخلايا في الانقسام ولكن ببطء ملحوظ ثم يسرع معدل الانقسام حتى يصل الى درجة تثبت عليها سرعته وتعرف هذه الفترة بطور النمو اللوغاريتمي Logarithmic or exponential growth phase

او يطلق عليه Log phase •

ويميل بعض الباحثين الى اعتبار المرحلة الاولى من الطور اللوغاريتمي والتي يظهر بها زيادة متدرجة في تعداد الخلايا طور منفصلاً يعرف بطور النمو المتزايد Accelerated growth phase ، والسبب في تدرج النمو في هذه الفترة



الشكل (1.2) منحنى نمو كائن حي مجهري في بيئة مغمورة .

ان الخلايا جميعا لا تكمل فترة ركودها في وقت واحد وينتهي هذا الطور التعنير بانتظام معدل النمو وثبات وقت الجيل ودخول الخلايا في الطور اللوغاريتمي . وكذلك يميل البعض الاخر من الباحثين الى اعتبار المراحل النهائية من الطور اللوغاريتمي والتي يظهر بها بطء في معدل الانقسام والتكاثر طورا منفصلا يعرف بطور بطء النمو Retardation growth phase . وينتهي الطور اللوغاريتمي عندما يبطي معدل التكاثر وتزداد فترة وقت الجيل ويثبت تعداد الخلايا الحية بالمزرعة . عندئذ يقال ان المزرعة قد دخلت طورها الثابت من النمو Stationary phase وفي خلال هذه الفترة يكون هناك توازن بين عدد الخلايا المنقسمة وعدد الخلايا الميتة . وقد يختلف هذا التوازن حيث يزداد تعداد الخلايا الميتة من تعداد الخلايا المنقسمة ، او بمعنى آخر لا يكون هناك تعويض لمعدل الموت بتكوين خلايا جديدة ، ويعرف هذا الطور من النمو بطور تناقص النمو أو طور الموت Decline or Death Phase . هذا هو تسلسل احداث النمو عندما تلحق بيئة غذائية بلباح ميكروبي معين ، وبالرغم من ان

شكل المنحنى قد يتغير قليلا تبعا لنوع الكائن الحي المجهرى النامي أو لظروف النمو ، الا ان اتجاهاته واطواره لا تختلف كثيرا عن تلك المبينة في الشكل (1.2) . ويحسن هنا مناقشة الطرق التي يتم بها النمو والظروف التي يتأثر بها في كل من الاطوار الاربعة الرئيسة المشار اليها سابقا .

1.2. طور الركود The lag phase

لاي كائن حي مجهرى ، فان الفترة التي تنقضي بين تلقيح البيئة الغذائية والكشف عن نمو مرئي تعرف بطور الركود . ان هذه الفترة هي فترة تأقلم على الظروف البيئية الجديدة ، وتعتمد مدتها على طبيعة الكائن الحي المجهرى ، وحجم اللقاح ووضعه الفسيولوجي ، وكمية البيئة المنقولة من اللقاح ، والتراكيز المتغيرة من المواد الايضية الاساسية في البيئة الجديدة ، ودرجة الحرارة ، واهيانا نوعية وكثافة الاضائة . وعموما فان طور الركود يمكن تقصيره بزيادة حجم اللقاح ، وبزيادة درجة الحرارة الى الدرجة المثلى وبنقل بيئة غذائية متكاملة . ويمكن تقصيره كثيرا او حتى حذفه بواسطة التلقح بمزرعة في طور نموها اللوغاريتمي . ويعلل ذلك بزيادة كمية المواد المشبعة للانقسام والتي يحملها اللقاح الكبير الحجم الذي يعتقد انه RNA أو المواد المكونة له .

ان عدم حدوث انقسام في هذه الفترة لا يجوز ان يفهم منه توقف الخلايا عن النمو الفردي كلية . فان الركود الملحوظ هو ركود في حدوث عملية الانقسام فقط ، ولكنه ليس ركودا في عمليات التخليق البروتوبلازمي بداخل الخلية .

ومن الدراسات السايولوجية التي أجريت على الخلايا في هذا الطور يتبين انها تزداد في الحجم لتصل الى ضعف او ثلاثة اضعاف حجمها الاصلي . وقد بينت الدراسات الكيموحيوية زيادة معدل النشاط الايضي خلال فترة الركود ، كما بينت ايضا زيادة كمية المكونات الاساسية للمحتويات النووية من البيورينات والبيريميدينات Purines & pyrimidines والمحتويات البروتينية بالغلبة ، الا ان زيادة نسبة البروتين تكون اقل نسبيا من الزيادة في المحتويات النووية .

وقد اظهرت الدراسات الكيميائية ان هناك زيادة في محتويات الخلية من RNA خلال فترة الركود ، وهو من المكونات الاساسية للسايتوبلازم في حين ان

محتويات الخلية من DNA المميز للمحتويات النووية لم تتأثر نسبته بالحياة خلال هذه الفترة .

ومن ناحية أخرى يمكن إطالة فترة طور الركود عند تلقيح الاحياء المجهرية في بيئة تختلف عن تلك التي كان اللقاح ناميا بها حيث ان تأقلم اللقاح للنمو على البيئة الجديدة يتطلب وقتا أطول . ويمكن تقصير فترة الركود للأحياء المجهرية غير ذاتية التغذية بنقل اللقاح من بيئة بسيطة الى بيئة معقدة كما يمكن إطالة فترة هذا الطور لمثل هذه الاحياء عند اجراء العكس .

وتكون خلايا الاحياء المجهرية اكثر حساسية للتغيرات الحرارية وهي في طور ركودها فعندما تكون درجة الحرارة قريبة من الدرجة المثالية للنمو يمكن تقصير فترة الركود كما ان الزيادة أو النقص في درجة الحرارة من الدرجة المثالية يطيل من فترة هذا الطور .

3.2. طور النمو اللوغاريتمي *Logarithmic or exponential growth phase*

سبق ان ذكرنا ان وقت الجيل يكون ثابتا خلال الطور اللوغاريتمي من النمو ، وأن طول وقت الجيل لنوع الاحياء المجهرية يتحدد عادة نتيجة لتفاضل العوامل الوراثية والظروف البيئية السائدة . فقد وجد أن وقت الجيل يتفاوت بين 15 دقيقة في بعض أنواع البكتيريا الى عدة أيام في بعض الفطريات الخيطية

• Filamentous fungi

ويعزى تفاوت طول فترة وقت الجيل للاحياء المجهرية المختلفة الى تفاوت قدراتها التخيلية للبروتوبلازم لا الى معدل او سرعة الانقسام ، اذ لوحظ ان الزيادة في محتويات الخلايا من النتروجين تكون متلازمة مع الزيادة في عدد خلايا الطور اللوغاريتمي . وقد لوحظ ان درجة الحرارة أثناء فترة الحضانة تؤثر الى حد كبير في معدل النمو أثناء هذا الطور وحيث ان عمليات النمو تعتبر عمليات كيميائية فاننا نتوقع ان مضاعفة النمو كلما ارتفعت درجة حرارة الزرع بمقدار 10 درجات مئوية . وقد وجد أن هذا صحيح في حدود معينة من الحرارة تتراوح بين 40-20 م وفي حدود هذا المجال نجد أن البروتين الميكروبي يتأثر قليلا أو بدرجة ضئيلة ملحوظة ، ولكن اذا ارتفعت درجة الحرارة عن 40 م فانه يحدث تشييط حراري للبروتين الانزيمي بالخلية الميكروبية مما يقلل من معدل النمو .

ودرجة الحرارة المثالية للنمو والتي عندها يكون وقت الجيل أقصر ما يمكن هي محصلة بين التأثير المنخفض للتفاعلات الانزيمية الخلوية عند ارتفاع درجة الحرارة وبين تأثيرها الضار في البروتين الانزيمي .

وبالإضافة الى ذلك فان مكونات البيئة الغذائية يمكنها أيضا أن تتحكم في طول فترة وقت الجيل . ولذا لم تتمكن خلايا الاسياء المجهرية من تجهيز مادة غذائية معينة فيشترط اذن اضافتها الى البيئة ، وتعرف هذه المواد المضافة بالمواد الغذائية الأساسية *Essential nutrient* . وبعض المواد يمكن للخلايا تجهيزها بسرعة والبعض الآخر يحتاج ببطء ، كما ان من المواد ما لا يمكن للخلايا تجهيزها على الإطلاق ، ومن هنا يمكننا ان نتفهم مدى تأثير اضافة أو غياب مثل هذه المواد على طول فترة وقت الجيل . وهناك بعض المواد تعتبر منشطة للنمو فتعمل بمعنى انها ليست من المواد الأساسية ولكن وجودها في البيئة يؤدي الى تقصير فترة وقت الجيل .

وبسبب وجود المواد الغذائية في البيئة لا يؤثر في معدل النمو وطول وقت الجيل فقط ، بل ان تراكيز هذه المواد في البيئة لها أيضا تأثير واضح في النمو ومعدلاته . لذلك فانه يمكن اطالة فترة وقت الجيل في مزرعة ميكروبية بتغيير تركيزها الغذائية أو بتقليل تركيز أحد مكوناتها .

لذا كان تركيز مكونات البيئة الغذائية محدودا فان المحصول الكلي للنمو الميكروبي يكون متنازعا على هذا التركيز ، فالمزرعة تنمو فترة من الزمن ثم تتوقف عن الانتعاش نظرا لاستهلاك بعض أو كل محتويات البيئة من الغذاء .

أما اذا اضيف المزيد من المواد الغذائية الى هذه المزرعة فانها تستعيد نشاطها ويبدأ الانتعاش الخلوي من جديد . ولكن عند الوصول الى حد معين يتوقف النمو كلية حتى ولو توفرت المواد الغذائية في البيئة اذ ان النمو لا يمكنه أن يستمر الى ما لا نهاية .

3.3 الطور الثابت Stationary phase

في خضوب المواد الغذائية من البيئة أو تراكم النواتج المختلفة فيها يحدد في النهاية الزيادة اللوغاريتمية في الكتلة الخلوية . فالظروف البيئية الأقل ملائمة

تسبب بالتالي نقصا متزايدا في معدل النمو حتى الوصول الى الطور الثابت من النمو ، عندما تبقى كمية الكتلة الخلوية في المزرعة ثابتة . في الاحياء المجهرية وحيدة الخلية قد يتم الطور الثابت بسرمة ، ولكن في الاحياء الخيطية توجد في الغالب فترة طويلة من النمو الاكثر تحديدا ، والذي خلاله يستمر الوزن الجاف بالتزايد بشكل جوهري ولكن بطريقة خطية تقريبا . وقد يعزى السبب الى النقص التدريجي في معدل انتاج فروع خيطية جديدة بموازاة نمو قمي مستمر في الهايفات الموجودة . او قد يعود السبب الى ترسيب احتياطيات الغذاء أو تكوين مضادات حيوية أو مواد ايسية أخرى بواسطة ميكانيكية التحويل الايسية . وقد أورد باحثون عديدون عدة أسباب لتفسير توقف المزارع الميكروبية عن النمو عندما تصل الى حد معين . ومن هذه الاسباب نفاذ المواد الغذائية من البيئة ، وزيادة تركيز المواد الايسية الناتجة عن النشاط الخلوي اذ ان هذه المواد قد تؤدي الى خفض قيمة pH البيئة الى حد يمنع التكاثر أو تكون هذه المواد ذاتها سامة للخلايا النشطة .

ويتوقف طول فترة الطور الثابت على درجة حساسية خلايا الاحياء المجهرية للظروف السائدة في البيئة حيث يظل عدد الخلايا الحية المنقسمة ثابتا بها . فكلما زادت حساسية الخلايا وكانت الظروف غير ملائمة قصرت فترة الطور الثابت من النمو .

4.2. طور تناقص النمو أو طور الموت Decline or death phase

وهذا الطور يعقب الطور الثابت حين يبدو أن معدل موت الخلايا الميكروبية يزيد عن معدل التكاثر وتكوين خلايا جديدة . ويرجع ذلك الى عدة اسباب تختلف باختلاف نوع الاحياء المجهرية النامية . والتحول المفاجيء من الطور الثابت الى طور الموت يتضمن معدلا لوغاريتميا لموت الخلايا هو عكس المعدل اللوغاريتمي للنمو المميز للطور اللوغاريتمي . وقد يستمر ثبات معدل الموت لعدة أيام أو تموت كل الخلايا خلال هذه الفترة حسب نوع الاحياء المجهرية .

الفصل الثالث

الاحتياجات الغذائية للأحياء المجهرية

Nutritional Requirements of Microorganisms

1. مقدمة
2. مصدر الماء
3. مصدر الطاقة
4. مصدر الكربون
5. مصدر النيتروجين
6. مصدر العناصر المعدنية
7. عوامل النمو

يستخدم الغذاء في معظم الخلايا الحية لتأدية وظيفتين أساسيتين هما توليد الطاقة وبناء البروتوبلازم . وفي كل الخلايا الحية حيوانية او نباتية ، يتרכب البروتوبلازم الخلوي من مركبات تحتوي على عناصر الكربون ، والهيدروجين ، والاكسجين ، والنيتروجين ، والفوسفور والكبريت بالإضافة الى بعض العناصر الأخرى التي تتواجد في البروتوبلازم بكميات ضئيلة جدا . فالبيئة التي يعيش فيها الكائن الحي المجهرى يجب ان تحتوي على كل هذه العناصر في صورة سهلة التناول . ويمكن تلخيص الامس التي تحدد صلاحية المواد لتكون مواد غذائية في الاتي :-

أولاً - ان تكون لها القدرة على عبور الفضاء السيتوبلازمي عن طريق الانتشار Diffusion او الانتقال Transport أو ان تتحلل خارج الخلية بواسطة انزيمات خارجية Extracellular enzymes الى وحدات أصغر تمقيداً يمكنها الدخول الى الخلية .

ثانياً - أن يكون للخلية كل النظم الانزيمية القادرة على دمج المادة الغذائية في بروتوبلازمها دون أن تحدث أي تغيير أو أن تحولها كيميائياً إلى جزيئات أكثر صلاحية من جزيئات المادة نفسها على تكوين البروتوبلازم الخلوي . أو أن تحتوي الخلية على نظم انزيمية يمكنها مهاجمة المادة الداخلة وأنتاج طاقة .

وخلاصة القول يشترط في المادة الغذائية ، أولاً قدرتها على الدخول إلى الخلية ، وثانياً ان يكون الجهاز الخلوي قادراً على استعمالها ، وكلاهما يعتمدان على نوع المحتويات البيوتوبلازمية في الخلية .

وتختلف الأحياء المجهرية في احتياجاتها الغذائية وذلك لأنها تختلف أساساً في قدرتها على استهلاك وتخليق المواد المختلفة وعوامل النمو من مواد غذائية بسيطة. ويبرز هذا الاختلاف حتى بين الأنواع المختلفة للجنس الواحد. وعموماً فإن لجميع الأحياء المجهرية متطلبات عامة تعتبر أساسية لنموها وتكاثرها، وهذه المتطلبات هي مصدر للماء، والطاقة، والكربون، والنيتروجين، والعناصر المعدنية،
وهوائل النقص

ملاوة على كون الماء أحد المكونات الرئيسية للخلية الحية ، فإنه يعتبر أساسيا لعمل البروتين الانزيمي ، ولإذابة المواد الخلووية العضوية واللاعضوية وكذلك كمادة تفاعلية في العديد من العمليات الايضية .

وبالرغم من ان التفاعلات الايضية تتضمن العديد من التفاعلات الكيميائية المنتجة للماء الا أنه من المشكوك به ان مثل هذا الماء المنتج أيضا يمكن أن يفي الى حد كبير بالمتطلبات المائية للكائن الحي المجهري لكي ينمو .

وبالإضافة الى وظائف الماء السابق ذكرها ، فقد وجد في عمليات التخمير المغمر ان الماء خارج الخلية يجهز معلقا مائيا لخلايا الاحياء المجهريه ، وكذلك شبكة منتظمة لتوزيع المواد الغذائية والاكسجين وبيئة ملائمة لتنظيم درجة الحرارة بواسطة انتقال حراري سريع .

ويتم تنظيم كمية ما تأخذه الاحياء المجهريه من الماء والايونات بواسطة الاغشية شبه المنفذة ، والتي من المحتمل ان تتكون من غشاء لايبوبروتيني .
فالجزيئات الصغيرة ومن ضمنها جزيئات الماء تكون قادرة على النفاذ خلال مسامات هذه الاغشية ، ولكن المواد ذات الاوزان الجزيئية الكبيرة يجب ان تعظم اولا بواسطة الانزيمات الخارجية . وعادة يكون للمصارة الخلووية تركيز أيوني اعلى من الوسط الخارجي ، وبذلك فان الازموزية تحدد دخول الماء بواسطة الانتشار خلال الاغشية شبه المنفذة حتى يتم منعه بواسطة الضغط الانتفاخي Turgor pressure (وهو الضغط الهيدروستاتيكي التي تبذله الخلايا بواسطة ضغط البروتوبلاست المتوسع على خلايا او اغشية جدار الخلية شبه الصلبة) او حتى تصبح التراكيز الخارجية والداخلية متساوية .

وتكون الايونات اللاعضوية والمواد الاخرى ذات الوزن الجزيئي الصغير قادرة على دخول الخلايا بواسطة الانتشار السلبي Passive diffusion ، ولكن يمدل ابطا من معدل دخول الماء . ولبعض الاحياء المجهريه القدرة على اسراع هذه العملية بحمل ميكانيكيات للانتقال النشط . وتكون هذه العمليات مدعومة بواسطة الطاقة الخلووية ، وهي تسمح بتراكم المواد الغذائية الخلووية اتجاه انحدار او تدرج التركيز Concentration gradient .

بالرغم من ان معظم الاحياء المجهرية تحصل على الطاقة اللازمة لها عن طريق تحويلها للمركبات الكيميائية ، الا ان عددا قليلا منها يمكنه ان يستخدم الطاقة الضوئية بطريقة مماثلة لما تقدم به النباتات الخضراء . فالاحياء المجهرية المثلثة للضوء Photosynthetic مثل بعض البكتيريا والاشنيات تحتوي على صبغات ملونة تشبه الكلوروفيل النباتي وان هذه الصبغات تعمل كعامل مساعد في استغلال الطاقة الضوئية لتحويل ثاني اوكسيد الكربون الى كربوهيدرات تدخل في بنساج البروتوبلازم الخلوي . من ذلك نرى ان الاحتياجات الغذائية لهذه الاحياء المجهرية تكون مرتبطة بعملية التمثيل الضوئي والاحياء المجهرية الاخرى التي تحصل على طاقتها عن طريق كيميائي Chemosynthetic ، قد تحتوي على صبغات مختلفة ولكن لا يمكن لاحداها ان تستفيد من الطاقة الضوئية . الا انها تكون قادرة على القيام ببعض التفاعلات الكيميائية والتي ينتج عنها مركبات غنية بالطاقة .

ويمكن تقسيم هذه الاحياء المجهرية الى مجموعتين :-

احداهما تستخدم مركبات كيميائية غير عضوية للحصول على مصدرها من الطاقة وهذه تعرف بذاتية التغذية Autotrophs ، والاخرى تستخدم مركبات كيميائية عضوية للحصول على الطاقة وتعرف بالاحياء غير ذاتية التغذية Heterotrophs.

ويمكن بسهولة التمييز بين الاحياء المجهرية الاجبارية في تنفيذها الذاتية Strict autotrophs وبين الاحياء المجهرية غير ذاتية التغذية اجبارا ، strict heterotrophs ، الا أنه يصعب التمييز بينها وبين الاحياء المجهرية ذاتية التغذية اختيارا Facultative autotrophs والتي يمكنها ان تحصل على غذائها بالطريقتين الذاتية او غير الذاتية .

فالاحياء المجهرية الذاتية التغذية اجبارا تنمو فقط على بيئات تتكون من مواد غير عضوية ويمكنها ان تؤكسد المواد غير العضوية للحصول على الطاقة اللازمة لها لتمثيل ثاني اوكسيد الكربون . ويتطلب في بعض انواع البكتيريا وجود الكبريت او المواد الكبريتية مثل افراد جنس *Thiobacillus* ، *Beggiatoa* ، في حين في بعض انواع البكتيريا يتطلب وجود الامونيا كما هو الحال في افراد الجنس *Nitrosomonas* او النتريت NO_2 كما في افراد الجنس *Nitrobacter* .

والاحياء المجهرية غير ذاتية التغذية اجبارا يمكنها استخدام ثاني CO_2 ولكن يلزمها مصدر خارجي من مواد كربونية عضوية مثل الكربوهيدرات والاحماض الدهنية أو الكيتونية أو الامينية . ولا تعمل هذه المواد كمصدر للكربون لبنسواء البروتوبلازم فقط بل يمكن لها أن تعمل كمصدر للطاقة نتيجة للنشاط الايضي الخلوي .

وبين المجموعتين السابقتين نجد بعض الاحياء المجهرية ذاتية التغذية اختيارا يمكنها ان تعيش باحدى الطريقتين ومن أمثلة هذه الاحياء المجهرية ، تلك التي يمكنها ان تمثل الهيدروجين الجوي عند تنمو بطريقة ذاتية التغذية ، ويمكن تمييز افراد هذه المجموعة عن طريق المواد التي تستخدمها في اكسدة الهيدروجين وهذه اما ان تكون كبريتات او اوكسجين او ثاني اوكسيد الكربون . وهذه الاحياء المجهرية يمكنها أن تعيش بطريقة غير ذاتية التغذية حين يمكنها ان تستغني عن عملية تمثيل او اكسدة الهيدروجين للحصول على طاقتها . من ذلك نرى ان طريقة تغذية الاحياء المجهرية ذاتية التغذية اختيارا تعتمد كلية على الظروف التي تعيش فيها ، فاذا توفر الهيدروجين وثاني اوكسيد الكربون فانها تنمو ذاتية التغذية وعند وجود او توفر المواد العضوية يمكنها ان تستغني عن احتياجاتها من الهيدروجين الجوي .

4. مصدر الكربون Carbon source

ان الاساس الذي يحدد وظيفة المادة في تغذية كائن حي مجهرى معين في كونها مصدرا وحيدا للكربون أو للتروجين ، يعتمد على ما اذا كانت هذه المادة يمكن تحويلها الى كل المواد الوسطية الاساسية التي تتكون من طريقها المواد البنائية كالكربوهيدرات والبروتينات والدهون والاعماض النووية .

ويعد الكربون ضروريا لتخليق مادة الخلية ، ولكن الصورة التي يمكن بها أن تستخدم تعتمد على الوسائل المتبعة بواسطة الكائن الحي المجهرى لتجهيز نفسه بالطاقة . فالاحياء المجهرية غير ذاتية التغذية تصد اغلب احتياجاتها من الكربون بواسطة ادخال المواد الايضية الناتجة من تكسير المركبات العضوية والتي أيضا تعتبر مصدرا لطاقاتها . ومن الناحية الاخرى ، فان الاحياء المجهرية ذاتية التغذية تكون

قادرة على تعزيز التحلل الموضعي للدم وهذا يسمح بتثبيت ثاني اوكسيد الكربون الجوي واستخدامه كمصدر وحيد للكربون . وتوفر ذرات الهيدروجين النباتية من خلال كل مجموعة عام مسعة لتوفير الطاقة اللازمة لثبات ثاني اوكسيد الكربون كمركب جليسيرالدهيد - 3 - فوسفات ، وذرة الاوكسجين المتبقية إما ان تتحرر كأوكسجين جزيئي (بواسطة الطحالب والنباتات الزائفة) أو أن تنقل الى مادة تفاعل لا عضوية قابلة للاكسدة وعضوية على هيدروجين أو كبريت (بواسطة البكتريا المسلة للضوء) . كلا هاتين المسطتين الذاتيتي التغذية تسمح للاحياء المجهرية بتحويل ثاني اوكسيد الكربون الى جليسيرالدهيد - 3 - فوسفات ، وهذا المركب ويسبب دوره الوسيط في أيض الكربوهيدرات للاحياء المجهرية ، يكون قادرا على تجهيز الطاقة والمركبات الكربونية اللازمة لنمو الخلية . وهناك بعض المواد الكربونية تستخدم بواسطة الاحياء المجهرية غير ذاتية التغذية لانتاج الطاقة ، ولكن اذا لم ينتج منها كل المركبات الوسطية الاساسية اللازمة لعمليات التخليق انما لا تصلح في تغذية هذه الاحياء المجهرية كمصدر وحيد للكربون .

٥- مصدر النتروجين Nitrogen source

تظهر الاحياء المجهرية اختلافا كبيرا في استخدامها لمصادر النتروجين . فالعديد من الاحياء المجهرية يكون ذاتي التغذية بالنسبة للنتروجين ، لكنه من النسي في وجود النترات ، والامونيا ، وفي بعض الاحيان على النتروجين الغازي كمصدر وحيد للنتروجين ، في حين أن احياء مجهرية أخرى تحتاج الى وجود هذا المنصر بصورة أحماض أمينية أو بصورة قواعد البورين Purine والبيرييميدين Pyrimidine . فالاحياء المسيرية التي تحتاج الى أحماض أمينية قد تكون فقيرة غذائيا ، أما أسمى قدرتها على تخليق مجاميع الامين أو لفشلها في تخليق أحماض أمينية معينة .

فالاحتياج من الاول يمكن تحقيقه بتوفير أي حامض من مجموعة الاحماض الامينية كمصدر للنتروجين ، ولكن الأكثر دقة من ذلك هو توفير مسبق فلحامض الامينية النافعة فعلا والمؤثرة في عملية النمو .

كما ذكرنا فان الاحياء المجهرية الذاتية التغذية يمكنها استخدام الامونيا أو

ايون الامونيوم كمصدر وحيد للنتروجين على أن يستوفي الشروط الاساسية بمعنى امكانية تحولها الى كل المركبات الوسطية الاساسية اللازمة لتخليق المركبات النتروجينية . ثلثامونيا تتحول الى احماض امينية وهي الوحدات البنائية للبروتينات عن طريق تثبيتها مع واحد من العاضيين الكيتونيين الاساسيين ، الاوكزالواستيك Oxaloacetic أو ألفا-كيتوجلوتاريك α -Ketoglutaric الناتجين من تحولات الجلوكوزالايضية وينتج عن ذلك اما العاض الاميني الاسبارتيك Aspartic أو العاض الاميني الجلوتاميك Glutamic . ومن هذين العاضيين الامينيين تتكون الاحماض الامينية الاخرى اللازمة من طريق انتقال مجموعة الامين من أحد هذه الاحماض الى أي حامض كيتوني مناظر . وقليل من الاحماض الامينية اللازمة لعمليات البناء قد تتكون بطرق خاصة أخرى غير عملية انتقال المجموع الامينية Transamination السابق الاشارة اليها .

وبالاضافة الى ما تقدم فان لايون الامونيوم القدرة على الاندماج مع المجموع الفعالة لبعض الاحماض الامينية المعنية مثل مجموعة الجوانيديين Guanidine في العاض الاميني الارجنتين Arginine ، وفي حلقات البيورين Purine أو البريميدين Pyrimidine في جزيئات الاحماض النووية . وعندما تمتلك الخلية الميكروبية القدرة على كل طرق تثبيت الامونيا السابقة الذكر وكذلك كل طرق تحول المركبات الناتجة من هذا التثبيت الى مركبات ضرورية لعملية البناء يمكن للامونيا او ايون الامونيوم حينئذ ان تعمل كمصدر وحيد للنتروجين لنمو هذا الكائن الحي المجهرى . أما اذا كانت الخلية الميكروبية غير قادرة على القيام بواحدة أو بأكثر من هذه التفاعلات فانه يلزم حينئذ اضافة العاض او الاحماض الامينية أو النووية الى البيئة الغذائية ، والتي يفترض أن تتخلق بالخلية . وحتى اذا كانت الخلية قادرة على القيام بهذه التفاعلات ولكن بمعدل ضعيف فان اضافة نواتج هذه التفاعلات الى بيئة النمو يزيد من معدل النمو بدرجة ملحوظة .

ويشاهد هذا بوضوح في بعض الاحياء المجهرية غير ذاتية التغذية التي يمكنها ان تنمو على أملاح الامونيم كمصدر وحيد للنتروجين الا أن اضافة الاحماض الامينية اليها يزيد كثيرا معدل نموها ، وكما سبق أن بينا ان القدرات الوظائفية للجهاز الخلوي تعتمد كلية على ظروف التغذية اثناء النمو ، ويعمل

هذا بافتراض ان البروتين الخلوي يتكون من مصدر عام من الاحماض الامينية Common amino acid pool. • وعندما تقل كمية هذا المصدر نتيجة لقلة تكون الاحماض الامينية من الامونيا ، فان اول ما يتخلق في الخلية من بروتينات هو البروتين الانزيمي الاكثر اهمية من الناحية الحيوية للخلية ، اما اذا توفر مصدر الاحماض الامينية بالخلية وذلك باضافة مزيد منها الى بيئة النمر ، فان الخلية تكون محتوية على كمية كافية من البروتين الانزيمي ، وبالتالي يمكن للخلية ان تقوم بالعمليات التخليقية الاكثر اهمية مثل تكوين البروتوبلازم وحدوث الانقسام بالاضافة الى تكوين الانزيمات الاخرى الاقل اهمية من ناحية بقائها مثل الانزيمات الطبيعية •

6. مصدر العناصر المعدنية Mineral source

بالرغم من توفر مصادر الطاقة والكربون والنتروجين للخلية الميكروبية فانها لا تستطيع النمو في حالة الغياب الكلي للعناصر المعدنية ويرجع ذلك الى ضرورة وجود العناصر المعدنية لتنشيط الكثير من التفاعلات الايضية والى وظيفة المركبات الفوسفاتية في توليد وتخزين الطاقة والى دخول المعادن في التركيب البنائي لعدد من المكونات البنائية في الخلية •

ومن السهل تقدير احتياجات الخلية الميكروبية من الكبريت والفوسفور والتي تحتاجها الخلايا بكميات اقل من المواد الغذائية الاساسية الاخرى ، لذلك يجب ان تحتوي البيئات الغذائية على مصدر كل من هذين المعدنين ، الا ان الاحتياجات من العناصر الاخرى يصعب تقديرها والتعرف عليها اذ ان الكميات اللازمة للخلايا ضئيلة جدا لا تزيد عن التي تتواجد كمكونات للاوعية الزجاجية أو في الماء المقطر او في املاح الامونيوم أو الفوسفات التي تضاف الى البيئة •

وعلى أساس الوظائف الفسيولوجية للعناصر المعدنية فان خلايا الاحياء المجهرية وكثيرها من الخلايا تحتاج بالدرجة الرئيسة الى وجود عناصر الصوديوم ، والبوتاسيوم ، والكالسيوم ، والمغنسيوم ، والفوسفور والكبريت وأحيانا الكلور • كما تحتاج هذه الخلايا الى وجود كميات بسيطة جدا من بعض العناصر التي تلعب دورا هاما في الكثير من التفاعلات الانزيمية في الخلية ومثل هذه العناصر النادرة

Trace elements الحديد ، والمنغنيز ، والنحاس ، والزنك ، والكوبلت ،
والمولبيدوم واليورون .

وتختلف الوظائف التي تؤديها العناصر المعدنية للخلية ، فالكبريت مثلا يدخل في تركيب بعض الاحماض الامينية مثل السيستئين Cysteine والميثيونين Methionine ، كما ان الكبريتات التي تحتاجها بعض الاحياء المجهرية غير ذاتية التغذية يمكن الاستعاضة عنها ببعض المركبات الكبريتية العضوية . وتعد المركبات الفوسفورية اساسية في تحولات الطاقة ، وبعض المركبات الفوسفورية والفوسفوليبيدات تعتبر ذات أهمية في عمليات تخزين الدهون بالخلية ، وكذلك الحال بالنسبة لبقية العناصر المعدنية الاخرى .

٢. عوامل النمو Growth Factors

عرفت عوامل النمو بطرق مختلفة ، مثلا هي تلك المركبات العضوية اللازمة للنمو والتي يجب ان تكون موجودة بكميات ضئيلة جدا . وفي هذه الحالة تكون عوامل النمو مرادفة للفيتامينات Vitamins . وقد اعطيت تعاريف أخرى لعوامل النمو منها ، أي مادة ضرورية للنمو ، أو أي مركب عضوي ضروري للنمو . وبالتالي سنستخدم التعبير الأخير محتفظين باسم الفيتامينات للمركبات العضوية أو عوامل النمو الضرورية بكميات صغيرة جدا فقط . وهذه المواد لا تتطلبها الخلايا لانتاج الطاقة أو لبناء مكونات بيوتوبلازمها ، بل هي ضرورية لعمل كثير من الانزيمات التي تقوم بكثير من التفاعلات البنائية في الخلية .

ومن المعروف أن ضرورة اضافة فيتامين ما الى بيئة نمو سلالة ميكروبية معينة لا تستطيع النمو بدونه يعني ان هذه السلالة لا تقدر على تخليق هذا الفيتامين ، الا انه قد ثبت أيضا ان لوجود الفيتامين في البيئة الغذائية للسلاسل الميكروبية التي تستطيع أن تخلقه تأثيرا منشطا للنمو بدرجة ملحوظة .
ان دراسة تأثير الفيتامينات أو عوامل النمو على نمو الاحياء المجهرية قد وفرت طريقة مفيدة في السنوات الأخيرة لاكتشاف فيتامينات جديدة وكذلك معرفة الوظائف الحيوية لمختلف الفيتامينات .

وقد تم توضيح الدور الوظيفي لبعض الفيتامينات التابعة لمجموعة B

(B-Complex Vitamins) بأنها تعمل كمشاركات انزيمية Coenzymes للمديد من الانزيمات التي تتكون وتعمل في خلايا كل من الاحياء المجهرية والنباتية والحيوانية . والفيتامين المعين قد يعمل كمشارك انزيمي للعديد من الانزيمات التي تساعد في تفاعلات غلوية مختلفة .

ولأظهار الطريق الذي يمكن للخلية اتباعه في تكوين نظام انزيمي كامل ، فمن ناحية نجد ان الخلية تخلق عدة أحماض امينية ترتبط ببعضها لتكون الجزء البروتيني من الانزيم ، ومن الناحية الاخرى نجدها تقوم بتخليق الفيتامين وما يتبع ذلك من تفاعلات لتحويله الى مشارك انزيمي . كما أن تركيب الفيتامين يبقى ثابتا بدون تغيير اثناء عملية التحويل . فاذا افترضنا أن نوعا من الاحياء المجهرية لا يقدر على تمييز الفيتامين أو لا يقدر على تحويله الى مشارك انزيمي او أنه قد يقوم ببعض خطوات هذه التفاعلات فمن المتوقع عدم حدوث نمو في البيئة الا اذا أضيف اليها الفيتامين أو المشارك الانزيمي .

ويمكن توقف التفاعلات التخليقية للفيتامينات تختلف باختلاف السلالة الميكروبية . فحينما نجد أن بعض السلالات الميكروبية تتوقف بها هذه التفاعلات عند الخطوات المبدئية من التخليق ، نجد ان البعض الاخر منها تتوقف به التفاعلات عند خطوات متقدمة من تخليق الفيتامين .

وفي معظم الحالات تستخدم الاحياء المجهرية الفيتامينات وهي على حالة مشاركات انزيمية بعلوم شديد عندما تتوفر في بيئة النمو كمادة غذائية ، ويرجع ذلك الى أن حالة المشارك الانزيمي من الفيتامين ما هي الا المشتقة المفسفرة Phosphorylated derivative التي يصعب مرورها خلال الاغشية

السايتوبلازمية ، وهناك بعض الحالات القليلة الشاذة تستخدم فيها الحالة المفسفرة من الفيتامين بدرجة اكبر من الفيتامين نفسه ويرجع ذلك الى عدم قدرة مثل هذه الخلايا على تحويل الفيتامين الى مشارك انزيمي .

ويمكن تلافي حاجة الخلية من الفيتامين أو من المشارك الانزيمي اذا أضيف الى بيئة النمو ناتج تفاعل الانزيم الذي يعمل ذلك الفيتامين كمشارك له . وهنا

تكون كمية ناتج التفاعل اللازم اضافتها اكبر بكثير من كمية الفيتامين الذي
تعرضه .

وكثير من انفيتمينات مثل حامض النيكوتينك Nicotinic acid
والرايبوفلافين Riboflavin والتي تعمل في عمليات نقل الهيدروجين وفي
نظم انتاج الطاقة تكون لها وظائف متعددة ومرتبطة بالخلية بحيث لا يمكن لأي مادة
كيميائية أن تحل محلها .

والفيتامينات الاخرى مثل البيريدوكسين (B₆) Pyridoxine وحامض
الفلويك Folic acid والسيانوكوبالامين (B₁₂) Cyanocobalamine يمكن
الاستعاضة عنها في بعض الاحياء باضافة مركبات أخرى . والفكرة كما سبق بيانها
أن الفيتامين في هذه الحالة يعمل كمشارك انزيمي في بناء المركبات التي يمكن ان
تحل محله في تنمية الكائن الحي المجهرى . فمثلا يمكن الاستعاضة عن البيريدوكسين
باضافة الاحماض الامينية في بيئة نمو بكتريا حامض اللاكتيك . إذ أن الحالة المفسرة
من هذا الفيتامين (المشاركون الانزيمي) Pyridoxal phosphate قد ثبتت
أهميتها في عمليات تخليق الاحماض الامينية في الخلايا البكتيرية .

فعند دراسة فيتامين (عامل نمو) جديد تتبع الخطوات التالية عادة لاثبات
أهميته لنمو الخلية الميكروبية التي تختلف عن طرق دراسة المواد الغذائية الاخرى :-

1. تعيين الاحتياج الغذائي من المواد الطبيعية التي تحتوي على عامل النمو .
2. العزل والتعرف على العامل المين والذي تتطلبه الخلايا بالمواد الطبيعية .
3. دراسة لحصر المواد التي يمكن استبدالها بعامل المعزول Metabolite replacement
4. دراسة الوظائف التي يؤديها عامل النمو المعزول للخلية Functional studies

أن غياب فيتامين أو حامض اميني من البيئة قد لا يؤدي الى ايقاف النمو كلية
فمثلا عند غياب فيتامين معين فإن الكائن الحي المجهرى يمكنه ان يقوم بكل
الخطوات التي تؤدي الى تخليقه ولكن قد يتم واحد او أكثر من هذه التفاعلات على
معدل بطيء نسبيا . وفي هذه الحالة تكون اضافة الفيتامين بمثابة منقشط للنمو
Stimulant هه كمادة غذائية اساسية Essential nutrient . أو أن كمية
الفيتامين التي يكونها الكائن الحي المجهرى تكون غير كافية لتحضير المشارك
الانزيمي الكافي للتفاعلات الخلوية .

وكمية الفيتامينات التي تخلقها الخلايا أو تمتصها من البيئة لا تكون عادة محدودة بالكمية التي تحتاجها الخلية منها إذ أن الخلايا تكون كميات من الفيتامينات تزيد كثيرا عن حاجتها وفي هذه الحالة تستخدم هذه السلالات في الانتاج التجاري لهذه الفيتامينات . وقد امكن انتاج فيتامين الريبوفلافين B_2 والسيانوكوبالامين (B_{12}) تجاريا من نواتج التخمرات المختلفة التي تتم بواسطة الخميرة والبكتريا على التوالي . وفي مثل هذه الصناعات التخمرية تعدل الظروف البيئية لمزارع هذه الاحياء بطريقة يكون من شأنها انتاج اكبر كمية من الفيتامينات .

الفصل الرابع

البيئات الغذائية للأحياء المجهرية

Microbial Media

1. مقدمة
2. الاعتبارات الهامة في اختيار البيئة المناسبة
3. تركيب البيئات الغذائية
4. البيئات المألوفة في التخميرات الصناعية
- 1.4. المولاس
- 2.4. مام نقيع الذرة
- 3.4. المحلول الكبريتيني المتخلف
- 4.4. العفشي
- 5.4. مصادر غذائية أخرى

1. مقدمة Introduction

في الواقع ان اختيار بيئة جيدة يعد عاملا مهما جدا لنجاح أي عملية تخمر صناعي كما هو الحال في انتخاب سلالة الميكروب التي تقوم بأجراء هذا التخمر . فالبيئة تجهز الكائن الحي المجهرى بالمواد الغذائية اللازمة للنمو والطاقة وبناء المادة الخلوية والتخليق الحيوي لنواتج التخمر . وبالإضافة الى المركبات الكربونية والنيتروجينية ، فان البيئة تحتوي على الاملاح اللاعضوية ، والماء ، والفيتامينات ، وعوامل النمو الأخرى ، ومولدات Precursors نواتج التخمر ، ووكسجين مذاب وهزازات أخرى ، ومنظمات الحموضة ، ومضادات الرغادي ، ومتحلل Lyase الغلایا الميتة ، ونواتج التخمر . جميع هذه المواد السابقة الذكر تعد مواد مفيدة ، وعلاوة على ذلك ، قد تحتوي البيئة أيضا على مثبطات مختلفة لنمو الأحياء المجهرية وتخليقها الحيوي ، وإذا كانت البيئة غير مفعمة ، فقد تحتوي حتى على الانزيمات النشطة المضافة كمكونات معينة من بين مكونات البيئة .

وقد يؤدي الاختيار غير الجيد لمكونات البيئة الى نمو خلوي محدود ونواتج تخمر قليلة . كما أن البيئة الفقيرة تقدر ان تغير أنواع ونسب النواتج التي يقوم الكائن الحي المجهرى بتخليقها . لذا فان أنواع وكميات المكونات الغذائية للبيئة تعد من العوامل المحددة والهامة لنجاح عملية التخمر الصناعي .

2 . الاعتبارات الهامة في اختيار البيئة المناسبة

تعتمد نوع البيئة المستخدمة على عدة متغيرات متبادلة العلاقة منها :

اولا - الكلفة وسهولة تقييس المكونات الفبردية : تكون ذات أهمية رئيسية فالمادة الأولية الخام المناسبة تكون قليلة الاستعمال اذا كان التجهيز العالمي لها محدودا جدا ، وكذلك المنتجات المختلفة الفزيرة تكون غير مرغوبة بدرجة متساوية اذا كانت غير قادرة على أن تفي بمواصفة قياسية .

ثانيا - النسبة المثوية لتركيب المادة الأولية الخام ، خصوصا تلك الفنية بالتروجين والكربون . فالمادة الأولية المحتوية على نسبة كبيرة من السليلوز لها استخدام صناعي ضيق ، بسبب قلة الأحياء المجهرية التي تظهر نشاطا على السليلوز .

ثالثا - من المهم جدا ربط مكونات البيئة بنوع المنتج المراد انتاجه . وعلى سبيل المثال ، فيتأمين B_{12} يحتوي على الكوبلت وبالتالي فان بيئة التخمر يجب ان تجهز هذا العنصر . ونفس الشيء فان الكلوريد يجب ان تتضمنه البيئة المستخدمة لانتاج المضادات الحيوية المحتوية على الكلور كالكلوروتتراسيكلين والكريزوفولفين Griseofulvin وايضا يجب توفر حامض فنييل أستيك في البيالبيئة كمولد عند انتاج بنزيل بنسلين (بنسلين G) .

رابعا - ان فسيولوجية الكائن الحي المجهرى المستخدم في تخمر معين تحدد بعض مستلزمات مكونات البيئة . فسلالات الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* تستخدم السكريات الهكسوزية فقط ، في حين خمائر أخرى مناسبة لاجراض الغذاء أو الملف لا تكون يمثل هذا التحديد في مصدر كربونها . وتفضل معظم الفطريات بيئة تحتوي على مصادر نيتروجينية سهلة التمثيل (مثل ماء نقيع الذرة) ، في حين الاكتينومايسيتات تفضل مصادر نيتروجينية غير متيسرة بسهولة (مثل : مسحوق فول الصويا Soybean meal) .

خامسا - وأخيرا يجب ان يعطى اهتمام لتوازن مكونات البيئة على سبيل المثال ، في انتاج الـ Griseofulvin الذي يكون فيه التركيز الامثل للنيتروجين متعلقا بطبيعة الكربوهيدرات المستخدمة .

قد يمر تكوين نواتج التخمر بطورين هما ، طور نمو الكائن الحي المجهرى و طور ظهور الناتج بواسطة الخلايا الناضجة . ونادرا ما تكون البيئة والظروف المحيطة اللازمة متماثلة لكل من الممليتين ، على الرغم من ان الكائن الحي المجهرى نفسه قد يغير في بعض الاحيان من الظروف خلال طور النمو لتكوين ظروف بيئية مناسبة لتكوين الناتج .

ويكون معدل نمو الكائن الحي المجهرى محددا بمدد الخلايا الموجودة ، وبمعدل نموها الخاص واخيرا بتركيز اي مادة تفاعل محددة . ويكون معدل تكوين الناتج مشابها لمعدل الانزيم على مادة تفاعله :



ان معدل تفاعل لاي تركيز معين من الانزيم يعطى بمعادلة ميخائلس -

هالدين Briggs-Haldane أو معادلة ميخائلس : Michaelis

حيث v هو معدل سرعة التفاعل ، V هو السرعة القصوى للتفاعل مع مادة تفاعل غير محددة ، K_m هو التركيز الجزيئي لمادة التفاعل و K_m هو ثابت ميكيليس (ويكافئ تركيز مادة التفاعل التي تعطي نصف السرعة القصوى) ويسموي ثابت تفكك معقد الانزيم - مادة التفاعل (وعادة بترتيب قدره 10^{-3} Molar) ويتناسب معدل التفاعل مع معدل اختفاء مادة التفاعل (dS/dt) ، وهذا بدوره يتناسب مع معدل تكوين الناتج (dP/dt) . وفي أي تفاعل فان السرعة النهائية قد يشار إليها بأنها ثابت (k) ، ولكن تركيز الانزيم سيتناسب مع العدد الكلي للخلايا (x) المنتجة للانزيم ، وبالتالي :-

$$V = K_x \frac{S}{S + K_m}$$

واذا كانت قيمة K_m صغيرة بدرجة كافية بحيث يمكن إهمالها فانها تسهل

$$\frac{ds}{dt} = \frac{dp}{dt} = kx$$

التقريب التالي :

وبالتالي في ظروف بيئية معينة فان معدل تكوين الناتج من مادة تفاعله يعتمد على تركيز الخلايا ، والناتج سيكون محددا بالمدى الذي به تؤثر المسارات البديلة لتكوين النواتج الثانوية .

ان جميع تخمرات الدفعة الواحدة Batch fermentations تكون معرضة لتماقبات العوامل المسيطرة . وخلال فترة النمو او تطور الكائن الحي المجهرى ، يتم تجهيز البيئة بدقة بالتروجين والكربون ، ولكن حجم الخلايا الناتجة يتحدد بدرجة كبيرة بواسطة درجة التحريك والتهوية . وخلال طور تكوين الناتج فان عددا من العوامل المختلفة قد تتحكم بالناتج منها : النتروجين المحدود قد يزيد من ناتج تخمر Griseofulvin ، والنقص الشديد في التهوية قد يكون ضروريا لاعلى ناتج في تخمر الايثانول ، والزيادة في الفوسفات قد تخفض من الناتج في تخمر الستربتومايسين .

وبطريقة مماثلة ، فأن لـ pH مائل التخمر تأثير كبير في العاصل من الناتج . فالايكتنومايستيات (خصوصا Streptomyces griseus) تفضل قيم pH بين 6 , 8 لكلا النمو وانتاج المضاد الحيوي ، ولكن الفطريات الراقية (مثال Penicillium chrysogenum) ، على الرغم من قدرتها على النمو

بصورة جيدة على pH 5.0 ، فانها تفضل pH بين 6.5 — 7.5 لانتاج المضاد الحيوي .

ويتداخل التحريك والتهوية ليمارسا تأثيرا في التراكيز المثلى للمكونات فالمستوى الأمثل من النتروجين في تخمر محدود النتروجين قد يكون في بعض الاحيان مرتبطا بصورة مباشرة مع درجة التحريك او التهوية ، ولكن الاخير يكون محددا بدوره بزيادة الـ Thixotropic nature لسائل التخمر المسبب بواسطة الزيادة في حجم الغلية . وهكذا فان التخمرات تكون محكومة بملاقات معقدة . ومن بينها تركيز النتروجين في البيئة ، وتصميم المخمر ، ودرجة التحريك او التهوية ، ومدد الخلايا الناتجة لكل وحدة حجم .

3. تركيب البيئات الغذائية Media Composition

قد يتفاوت التركيب الخاص لبيئة التخمر من بسيط الى معقد تبعا لنوع الكائن الحي المجهري وكذلك تبعا لتخمره . فالاحياء المجهرية الذاتية التغذية تحتاج الى بيئات غذائية لا عضوية بسيطة . وهذه الاحياء تحتاج الى قليل من الاسلح اللا عضوية ، والماء ومصدر النتروجين ، في حين تستوفي احتياجاتها من الكربون بواسطة ثاني اوكسيد الكربون الجوي أو بواسطة الكربونات . وعليه ، فمن مواد غذائية لا عضوية بسيطة تقدر الاحياء المجهرية الذاتية التغذية على تخليق كل المركبات العضوية المعقدة اللازمة لبقاء الحياة ولتسمح ينمو وتكاثر خلاياها ، وهي تستوفي احتياجاتها من الطاقة الكلية عن طريق اكسدة بعض المكونات اللاعضوية المعنية لبيئاتها .

وفي الطرف الماكس لهذا المقياس تقع الاحياء المجهرية الصعبة التسمية جدا Highly fastidious ، مثل بعض من بكتريا حامض اللاكتيك التي تنقصها القدرة على تخليق الكثير من احتياجاتها للمعيشة والنمو . هذه الاحياء تحتاج الى وجود انواع عديدة من المواد الغذائية المصنعة البسيطة والمعقدة في البيئة ، وكذلك يجب ان يكون لها امداد من الكربون العضوي للاستفادة منه في تخليق المادة الخلوية ولتحرير الطاقة الايضية .

هذان هما الطرفان النقيضان ومن الواضح ان هناك احياء مجهرية تتواجد باحتياجات غذائية تتوسط بين الطرفين .

وتقسم البيئات الغذائية البسيطة والمقدمة الى فئتين هما :

البيئة التركيبية أو التخليقية Synthetic medium والبيئة الخام Crude medium . ويضع من اللعة الاول ان البيئة التركيبية هي بيئة اختيار أو تفضيل ، وهي البيئة التي تكون جميع مكوناتها معروفة على وجه الخصوص . وكل مكون عبارة عن مركب نقي نسبيا وتكون الكميات الدقيقة منه والمشاركة في البيئة معروفة أيضا . وكمثال عن البيئة التركيبية هي تلك المحتوية على أسلح عضوية ، وسكر نقي ومركب أمونيوم أو نترات أو حامض أميني للامداد بالنتروجين المرتبط . ومن الجلي انه اذا كان الاحتياج للنتروجين مستوف بشيء كالدم المجفف مثلا ، الا اننا لا نعرف المكونات الدقيقة وكمياتها في البيئة . وتظهر البيئة التركيبية ميزات واضحة لبعض الانواع من الدراسات ، ولطالما ان كمية كل مكون وتركيبه الكيميائي تكون معروفة ، فان تركيز اي مكون أو عدة مكونات يمكن ان تتفاوت بسهولة لتقدير تأثيره الخاص او النوعي في نمو الخلية وكمية الناتج .

وكذلك فمن السهولة بمكان حذف أو اضافة المكونات الفردية . وتسمح هذه الاعتبارات بدراسة العمليات الايضية التي تؤدي الى عملية تكوين الناتج والتحكم فيها .

ونظرا لكون البيئة التركيبية معروفة جيدا ، فانها تساعد في الحصول على تكرارية في النمو وفي كمية الناتج من عملية تخمر واحدة الى أخرى بحيث ان الخطأ المائد الى تركيب البيئة يبقى في الحدود الدنيا .

وهادة لا يمد تكوين الرغاي مشكله في البيئات التركيبية ، لكونها لا تحتوي اي بروتين او ببتيدات عالية نسبيا في الوزن الجزيئي . وتكون عمليات استرجاع وتنقية نواتج التفاعل بسيطة نسبيا في مثل هذه البيئات ، وذلك لمدى جود مركبات عضوية هريبة ضمن البيئة وكذلك لكون أغلب المركبات التي قد اخل مع استرجاع الناتج معروفة .

وبالرغم من هذه المميزات ، فان البيئات التركيبية تكون قليلة الاسم صناعيا لارتفاع تكاليف مكوناتها النقية بالنسبة الى النواتج المتحصل عليها . من الناحية الاخرى فان البيئة البديلة هي البيئة غير التركيبية او الخام

Crude medium والتي لا تعطي دائما حاصلا اكبر من نواتج التخمر بالمقارنة مع البيئة التركيبية . وكمثال على البيئة الغام هي تلك المحتوية على مسحوق فول الصويا Soybean meal ، والولاس الناتج من مصانع صناعة السكر الغام Blackstrap molasses ، وماء نقيع الذرة Corn steep liquor ، وكبريتات الامونيوم وكربونات الكالسيوم وفوسفات البوتاسيوم احادية الهيدروجين وايضا قد تمد بالمواد المولدة لعملية التخليق الحيوي لنواتج التخمر ، وقد تسمح باستخدام العوامل المانعة للرغاوي بدون تغيير جوهري في التوازن الغذائي للبيئة . وعليه تحتوي البيئات الغام على مصادر خام أو غير معروفة تماما من المواد المغذية وبالتالي فانها توفر زيادة من كلا المواد المغذية وعوامل النمو .

ويفترض ان لا تحتوي هذه البيئة على معادن واملاح لا عضوية او مركبات عضوية سامة للكائن الحي المجهرى أو لتكوينه للنواتج . وكذلك يفترض ان تكون مصادر الكربون والنيتروجين الغام في مثل هذه البيئة بصورة يمكن للكائن الحي المجهرى استخدامها . وكمثال ، فان هذه البيئة لا يجوز ان تجهز سكرًا خماسيا لكائن حي يستخدم السكر السداسي فقط ، أو بروتين لكائن حي ليس له نشاط بروتينوليتي ، أو نشا لكائن حي تنقصه انزيمات الاميليزات .

واحيانا ينبغي ان تفي البيئات الغام ، الى بعض المدى البيئات التركيبية ، باحتياجات النمو وتكوين الناتج اضافة الى تجهيز المواد المغذية . وتشمل هذه الاحتياجات السمة البغوية ، والمجز في تكوين الرغاوي ، والسيطرة على جهد الاكسدة والاختزال ، ومعادلة نواتج النمو الحامضية او القلوية ، والاسهام في الحفاظ على الثبات الوراثي للكائن الحي المجهرى ، وتشجيع التهوية والتحريك الشديدين ، والسماح باسترجاع ناتج التخمر دون اللجوء الى طرق استرجاع معقدة ، ومقاومة التمثيم بدون حدوث تفاعلات عكسية للمكونات الغذائية ، والسماح لنمو الكائن الحي بحالته المورفولوجية الملائمة ، واستمداد مسبقا للمواد المولدة اذا لزم الامر ، والسماح بتكوين السبورات أو منها ، واستعداد مسبقا للمشيطات الايضية الخاصة عند الحاجة . وبالإضافة الى ذلك ينبغي ان تكون البيئة مناسبة من الناحية الاقتصادية للتخمر الممين .

وبفض النظر عن مصادر مكونات البيئة فإن الاحتياج الرئيس هو أن تكون هذه المواد المغذية رخيصة • وعلى هذا الأساس تعد النواتج الثانوية للمصنّعات الزراعية أرخص مصدر لمكونات البيئة وخاصة من ناحية مصدر الكربون • وتتوفر في الطبيعة مصادر غنية ومتنوعة للكربون والنتروجين وبقية المواد الغذائية الأساسية الأخرى ، سواء كانت هذه المواد منتجات أولية أو ثانوية للعمليات الزراعية أو الصناعية •

ومن المصادر الكربونية هي الكربوهيدرات البسيطة والمقدمة ، وتشمل الكحوليات السكرية أو الكحوليات الأخرى ، والأحماض العضوية ، والبروتينات ، والبيتيدات ، والأحماض الأمينية وحتى الهيدروكربونات •

ومن المصادر الخام للسكريات البسيطة هي موالس البنجر والقمص ، ومولاس الذرة (هيدروكسيل Hydrol) ، والشرش ، والمحلول الكبريتي المتخلف عن صناعة الورق Sulfite waste liquor ، ونفايات الفواكه ، ومخلفات معامل التلميب وما يشابه ذلك • ومن السكريات المتعددة كالنشأ هي تلك المجزأة بواسطة الذرة ، والحنطة ، والشليم ، والرز ، والبطاطا ، والبطاطا الحلوة ومنتجات زراعية أخرى ويمكن أيضا استخدام النواتج الثانوية السليلوزية كمصادر كربونية إلا أنها تحتاج إلى عملية تسكير مكلفة كالتحليل بالعامض ومن الأمثلة على هذه المواد المحتوية على 50% سليلوز هي : مخلفات الغشيب ، وقشور البلوط ، وقوالج الذرة والقش •

أما المصادر النتروجينية ، فقد تضاف الأملاح النتروجينية اللاعضوية حتى إلى البيئات الخام لإيفاء احتياجاتها من النتروجين لأغراض النمو •

وتعد المواد النتروجينية النباتية والحيوانية مصادر رئيسة للنتروجين في هذه البيئات • ومن الأمثلة على هذه المصادر : ماء نقيع الذرة ، والمواد المذابة والناتجة من معامل التقطير ، والكازين ، والحبوب ، والبيتونات ، ونفايات المسالخ ، ومسحوق السمك Fish meal ومسحوق فول الصويا Soybean meal ومساحيق بعض المحاصيل الزيتية •

إن العديد من المصادر الغذائية الخام الجيدة لبيئات التخمر هي نفسها مخاليط مقدمة من المواد الغذائية المجزأة للمركبات الكربونية والنتروجينية بالإضافة

الى عوامل النمو . وسنذكر أهم الامثلة على البيئات المستخدمة في عمليات التخمير الصناعي .

4. البيئات المالوفة في التخمرات الصناعية

1.4. المولاس Molasses

المولاس هو الناتج الثانوي لمصانة السكر من البنجر أو القصب . والمولاس هو ذلك الشراب المركز Concentrated syrup أو الشراب الام Mother liquor المتحصل عليه في اي خطوة من خطوات عملية تكرير السكر ، ويمطى اسام مختلفة تبعا لخطوة التصنيع المأخوذ منها .

ومن أنواع المولاس المستخدمة في التخمرات الصناعية ، المولاس الناتج من مصانع صناعة السكر الخام Blackstrap molasses وهذا يحضر مادة من قصب السكر ويعد من أرخص وأكثر المصادر السكرية استخداما في التخمرات الصناعية . ففي الانتاج التجاري للسكر ، يركز العصير الناتج من مرس قصب السكر وذلك للسماح لعملية تبلور السكر . ثم تفصل البلورات السكرية من الشراب الام الذي يركز مرة أخرى لاسترجاع كمية اضافية من السكر المتبلور . وتكرر هذه العملية عدة مرات الى ان تتجمع مشبطات التبلور الى تركيز معين بحيث يكون استرجاع السكر غير اقتصادي . عند ذاك يكون الشراب الام (أو الاساس) لا يزال محتويا على حوالي 52% سكريات كلية محسوبة على اساس 30% سكروز و 22% سكريات محسولة ويعرف هذا الشراب باسم Blackstrap molasses . وعندما يستخدم هذا المولاس كاحد مكونات بيئة التخمر يكون محوها على 50% سكريات قابلة للتخمير .

اما النوع الثاني فهو المولاس الناتج من مصانع تكرير السكر الخام Refinery Blackstrap molasses وهو منتج مشابه للسابق ولكنه يختلف عنه بكونه ناتج بعد اعادة بلورة السكر الخام اثناء عملية تكريره لانتاج السكر الابيض النقي .

والنوع الثالث هو المولاس عالي الاختبار أو المحول High-test or invert

molasses ويحتوي على 70 — 75% سكر وينتج بطريقة مختلفة

عن النوعين السابقين • حيث يحول كل عصير القصب جزئيا لمنع بلورة السكر ، أي ان السكروز يحلل جزئيا الى سكريات احادية باستخدام الحرارة والعامض ثم يعادل ويركز بدون ازالة أي سكر منه • وينتج هذا المولاس فقط في السنوات المميزة بوفرة الانتاج من قصب السكر ، وعليه قد يصبح تيسره في أي وقت موضعا للتعويض •

أما مولاس البنجر فانه ينتج بطرق مشابهة لانتاج مولاس القصب " ويكون مولاس البنجر محدودا في محتواه من البيوتين Biotin (عامل النمو المهم للخميرة) ولذلك فان كمية صغيرة من مولاس البنجر أو أي مصدر للبيوتين تضاف كمكمل نمو لهذه الاحياء المجهرية •

ومولاس الليرة الذي يدعى هيدروك Hydrol هو المولاس الناتج من صناعة الديكستروز المتبلور من نشا الليرة • اذ يحتوي على 60% سكريات ولكنه يحتوي على تركيز ملحي عال نسبيا يجب وضعه في الاعتبار اذا أريد استخدامه كأحد مكونات بيئة النمو •

وبالاضافة الى احتواء مولاس القصب أو البنجر على السكروز والسكر المحول فانه يحتوي على مواد كربوهيدراتية وغير كربوهيدراتية عديدة ومختلفة • وكذلك يحتوي على مواد تنروجينية بسيطة ومقدمة ، واحماض عضوية ، وعوامل نمو وفيتامينات ، واسلح لا عضوية خصوصا الكالسيوم والفوسفور وغيرها من الكاتيونات والانيونات •

ان مولاس القصب ومولاس البنجر يختلفان كثيرا في تركيبها من عام لآخر ومن منطقة جغرافية الى أخرى وكذلك تؤثر العمليات التصنيعية كثيرا في التركيب الكيماوي للمولاس ، لذلك قبل القيام باجراء عملية التخمر الصناعي تجري التجارب للتأكد من صلاحية المولاس المستخدم في الانتاج وقابلية الاحياء المجهرية على اعطاء نمو جيد فيه للحصول على أكبر كمية ممكنة من الناتج •

2.4. ماء نقيع الليرة Corn steep liquor

يعد ماء نقيع الليرة منذ زمن طويل مادة مضافة طبيعية مفيدة للبيئة التركيبية لتشجيع نمو الاحياء المجهرية أو لزيادة كمية المنتج من النواتج المرغوبة • وماء نقيع

الذرة هو المستخلص المائي الثانوي الناتج من نقع الذرة خلال الانتاج التجاري لنشا الذرة والجلوتين ومنتجات الذرة الاخرى . اذ يركز ماء النقع المتخلف الى حوالي 50% جوامد كلية ويعرف هذا المركز بساء نقيع الذرة ، حيث يستخدم في صناعة المواد العلفية وكبيثة مساعدة في صناعة التخمير .

وقد استخدم بكثرة في البداية كبيثة تخمر في صناعة البنسلين . ومن هذه الى 50% جوامد في ماء نقيع الذرة ، يشكل حامض اللاكتيك حوالي نصفها . اما الباقي فينضمحل الاحماض الامينية ، والجلوكوز وسكريات مختزلة اخرى ، والاملاح ، والفيتامينات ، والمولدات مثل تلك اللازمة لعزينة البنسلين . وهذه النسبة العالية من حامض اللاكتيك تتكون خلال الصناعة نتيجة نمو بكتريا حامض اللاكتيك والمايكودرمات (المكونة للفشام السطحي) والفطريات الشبيهة بالخميرة . اي ان حامض اللاكتيك ليس احد مكونات الذرة وانما ينتج من التخمير الطبيعي لماء نقيع الذرة بواسطة هذه الاحياء ، ثم تقتل الاخيرة عندما يركز المحلول بالحرارة . وبسبب هذه الطبيعة الحامضية لماء نقيع الذرة فان استخدامه في بيئات النمو يتطلب وجود كربونات الكالسيوم بنسبة معينة وذلك لتهيئة pH مناسب لنمو الكائن الحي المجهري للقيام بعملية التخمير . ويختلف ماء نقيع الذرة في تركيبه من وجبة تصنيع لآخرى ، وقد يؤدي هذا الاختلاف الى تكرارية غير دقيقة في التخمرات الصناعية . لذلك من الضروري تقدير مكونات هذا المحلول وخصوصا المكون ذا الاهمية المباشرة للعملية التخمرية (مثل حامض اميني معين او فيتامين والخ) لمعرفة المستوى الخاص بذلك المكون الموجود في كل وجبة من وجبات ماء نقيع الذرة المستخدمة في عملية التخمير .

3.4 المحلول الكبريتيتي المتخلف Sulphite waste liquor

ان هذا المحلول الكبريتيتي يتخلف من صناعة لب الورق من الخشب بعد هضم الاخير لتحويله الى لب سليكوزي وذلك بواسطة بيكبريتيت الكالسيوم Calcium bisulphite باستخدام الحرارة والضغط ، ويشكل التخلص من هذا المحلول المتخلف مشكلة كبيرة لمصانع الورق لكونه يؤدي الى مشاكل خطيرة وجدية في تلوث البيئة . وقد تصل BOD لهذا المحلول الى 25000 — 50000 ملغم لكل لتر . وتؤدي الطريقة المالوفة في التخلص منه في الجداول والانهار الى تلوث مياهها ،

وقد صنعت العديد من الدول قوانين للحد من استخدام هذه الوسيلة من وسائل التخلص من فضلات المصانع . وتشكل الليجنوسلفونات Lignosulfonate حوالي 20% من المادة العضوية للمحلول في حين تؤلف السكريات الاحادية حوالي 20% منه . لذلك يمكن استخدام هذا المحلول كبيئة تخمر مخففة في انتاج الكحول الصناعي بواسطة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* وفي انتاج بروتين الخلية الواحدة Single Cell Protein وذلك بواسطة تنمية الخميرة *Candida utilis* واصفخدام الناتج في تغذية الحيوانات ويحتوي المحلول الكبريتيتي المتخلف على 10 — 12% جوامد تشكل السكريات حوالي 20% اي انه يحتوي على 2% مكر تقريبا . وتشمل هذه السكريات الهكسوزات مثل D-جلوكوز ، و D-جالاكتوز ، و D-مانوز والبنروزات مثل D, زايروز و L- ارابينوز . ومع ذلك فان الكميات النسبية في هذه السكريات الموجودة في المحلول الكبريتيتي المتخلف تعتمد لدرجة معينة على الخشب المهضوم . فالخشب الطري يكون عاليا في محتواه في الهكسوزات في حين يكون الخشب الصلب عاليا في محتواه من البنروزات . وهذه النقطة مهمة جدا بالنسبة لنوع الكائن الحي المجهري الذي يستخدم في التخمر ، فسلالة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* تستخدم فقط الهكسوزات في حين يمكن لسلالة الخميرة *Candida utilis* ان تخمر كلا من الهكسوزات والبنروزات .

وفي أية حالة وبغض النظر عن نوع الكائن الحي المجهري فان عسكيات هذا المحلول لا يمكن ان تتخمر مباشرة ، لانه ينبغي ازالة ثاني اوكسيد الكبريت الحر او حامض الكبريتوز عنه اولا قبل اجراء التخمر . وعملية الازالة تكون بطريقتين، اما بواسطة الانتزاع بالبخار Steam stripping او بواسطة المعادلة والترسيب باستخدام الجير او كربونات الكالسيوم .

4.4 الشرش Whey

الشرش هو المحلول الذي يتخلف عند صناعة الجبن والكازين ، واغلب هذا المحلول يذهب الى المجاري . وعادة قيمة ال BOD له حوالي 60000-70000 ملغم / لتر وتأتي هذه اساما من اللاكتوز الموجود في الشرش . ويستخدم بعض

الشرش في تغذية الخنازير والمجول في حين تستخدم كميات قليلة منه في المشروبات الغذائية . ونتيجة لنمو صناعة الجبن فان حجم الشرش المنتج الذي كان 74 مليون طن في عام 1973 (حسب تقرير منظمة الغذاء والزراعة الدولية عام 1974) قد فاقم مشكلة التلوث . وقد وضعت دول عديدة قوانين جديدة للسيطرة على مشكلة التلوث ولإجبار الصناعة على إيجاد حلول لها . ومن ضمن هذه الحلول استخدام الشرش في بعض الصناعات التخميرية ، مثل صناعة الكحول الأيثيلي وبروتين الخلية الواحدة باستخدام بعض الانواع من الخمائر . والجدول (1.4) يوضح التحليل النموذجي للشرش السائل :-

(1.4) الجدول

تركيب الشرش السائل

المكون	المحتوى (% وزن / حجم)
ماء	93.1
بروتين	0.9
دهن	0.3
لاكتوز	5.1
رماد	0.6

من منظمة الغذاء والزراعة الدولية (1974)

ويشكل اللاكتوز حوالي 70% من جوامد الشرش والبروتين 15% - ويتواجد حامض اللاكتيك في الشرش بكميات متفاوتة تبعا لطول فترة تخزين الحليب قبل تصنيعه وخصوصا اذا استخدمت بكتريا حامض اللاكتيك في ترسيب الكازين . كذلك يختلف تركيب الشرش تبعا لانواع وطرق تصنيع الجبن . وقد تجرى بعض الماملات على الشرش قبل استخدامه كبيئة تخمر وقد تضاف اليه بعض المواد الغذائية الضرورية لنمو الكائن الحي المجهرى للحصول على أعلى كمية من الناتج المرغوب .

5.4. مصادر غذائية أخرى Other Food Sources

بالإضافة الى ما سبق ذكره فان العديد من المواد سواء كانت من مصادر

نباتية أو حيوانية تستخدم كبيئات غذائية لنمو الاحياء المجهرية واعطاء نواتج مرغوبة ، وأغلب المواد الزراعية سواء كانت الاولية او الثانوية وكذلك مخلفاتها تستخدم في التخمرات الصناعية . ومن هذه المواد الاعناب المختلفة (في صناعة النبيذ) ، والشعير (في صناعة البيرة) ، والبطاطا (في صناعة الكحول والمشروبات الكحولية) ، والذرة والقمح ، والرز ، والتمور ، والمديد من الخضراوات والفواكه .

كما يتم امداد التخمرات المختلفة بمصادر اضافية من النتروجين والكربون على هيئة أملاح لا عضوية ومركبات عضوية أو حتى في صورة غاز بالاضافة الى ما تحتويه هذه التخمرات في بيئاتها الغذائية من المصادر المختلفة لمتطلبات النمو .

والجدول (2.4) يبين المواد الاولية المستخدمة في التخمرات الصناعية .

الجدول (2.4)

المواد الأولية المستخدمة في التخميرات الصناعية

(أ) المواد المجهزة للتروجين		
نثروجين وزن/وزن	8%	<ul style="list-style-type: none"> مسحوق فول الصويا مسحوق الفول السوداني
نثروجين وزن/وزن	4.5%	<ul style="list-style-type: none"> ماء نقيع الدرة مسحوق الثرش
نثروجين وزن/وزن	2.0-1.5%	<ul style="list-style-type: none"> دقيق الشوفان دقيق القمح القمير مولاس القصب مولاس البنجر
(ب) المواد المجهزة للكربوهيدرات		
		النشا
		دقيق الشوفان
		دقيق القمح
		القمير
		مسحوق فول الصويا
		مسحوق الفول السوداني
		السكر الابيض النقي
		السكر البني الخام
		مولاس القصب
		مولاس البنجر
		الجلوكوز احادي الهدرجة النقي
		النشا المتحلل
		اللاكتوز النقي
		مسحوق الثرش

كما قد تضاف الى البيئة الغذائية بعض عوامل النمو والفيتامينات من مصادرها الأولية الخام لتمويض النقص فيها بالبيئة ملاوة على اسهامها في تنشيط نمو الكائن الحي المجهرى لاعطاء الناتج المرغوب . والجدول (3.4) يبين بعض هذه المواد

المضافة .

الجدول (3.4)
عوامل النمو الضرورية لبعض الاحياء المجهرية

عامل النمو الثانوي	الصورة الفعالة	المجموعة الكيميائية المقولة	المادة اللازمة للأنفعا بالاحتياجات الأيضية	المادة الأولية الخام مصدر عامل النمو
الثيامين (B ₁)	ثيامين بيروفوسفات	ازالة CO ₂ وبجاميع الدهيدية متكونة من C ₂	(1) بيريكدين . (2) ثيازول (3) بيريكدين + ثيازول (4) ثيامين	بقايا تلميع الرز ، جنين الحنطة ، الخميرة
الرايوفلافين (B ₂) (1) فلافين احادي النيوكليوتيد	هيدروجين	رايوفلافين	الحبوب .	
(2) فلافين أدنين ثنائي النيوكليوتيد	هيدروجين		ماء نقيع الذرة	
البيرووكسال (B ₆)	بيرووكسال فوسفات	مجموعة امينو وازالة CO ₂	(1) بيرووكسين (1) بيرووكسامين أو بيرووكسال (3) بيرووكسال	ميسيليوم الفطر Penicillium المتخلف ، الخميرة .
	فوسفات		بقايا تلميع الرز ، بذور الحنطة ، بذور الذرة السكرية ، ماء نقيع الذرة ،	

عامل النمو الثانوي	الصورة الفعالة	المجموعة الكيميائية	المادة اللازمة للأغفاء	المادة الأولية الحامض
مصدر عامل النمو	المقولة	بالاحتياجات الأيضية		
حامض النيكوتينيك	(1) نيكوتين أמידادين	هيدروجين	(1) حامض النيكوتينيك أو نيكوتين أמיד	ميسيليوم الفطر Penicillium المتخلف
أو نيكوتين أמיד	(2) نيكوتين أמיד ادنين ثنائي النيوكلوتيد فوسفات	هيدروجين	(2) نيوكليوتيدات النيكوتين أמיד	بذور الحنطة . الكبد .
	(3) نيكوتين أמיד احادي النيوكلوتيد	هيدروجين		
حامض البانتوثينيك	كوانزيم أ	مجموعة أسيل	حامض بانتوثينيك	(1) مولاس البنجر (2) ميسيليوم الفطر Penicillium المتخلف .
سيانوكوبالامين (B ₁₂)		ازاحة الكريوكسيل	(1) سبانوكوبالامين	(3) ماء تقيع الذرة . وحل البلاليع المنشط . الكبد .
	تخليق مجموعة مثيل .	(2) كوبالامينات اخرى	روث الابقار . ميسيليوم ال Sterptomyces griseus	(السيلاج -علف) اللحم .
حامض الفوليك	حامض تتراهيدرو فوليك	مجموعة فورميل	(1) حامض الفوليك	ميسيليوم الفطر Penicillium المتخلف
			(2) حامض بارا امينوبنزويك	السييناخ الكبد .

هاملي النمو الثانوي	الصورة الفعالة	المجموعة الكيميائية المتقولة	المادة اللازمة للأغذاء	المادة الأولية الحظام
مصدر عامل النمو			بالاحتياجات الأضية	
البيوتين	البيوتين	تثبيت CO_2	البيوتين	مولاس القصب عالي الاختبار . ماء نقيع الذرة . ميسليوم الفطر Penicillium المتخلف
ميسليوم اللايوك حامض اللايوك	الهيدروجين ومجاميع الأسيل	حامض الفا - لايوك أو حامض ثايوستك Thioctic	الكبد	
البيورينات	نيوكليوتيدات البيورين	(1) بيورينات	اللحم .	
		(2) نيوكليوتيدات مشتقة من البيورينات	الدم المجفف	
البيريميدينات	نيوكليوتيدات البيريميدين	(1) بيريميدينات	اللحم	
		(2) نيوكليوتيدات مشتقة من البيريميدينات		
الايونوسيتول الكولين	فوسفاتيدات فوسفاتيدات	الايونوسيتول الكولين	ماء نقيع الذرة صفار البيض حشيشة الدينار	
الهيمينات Hemins	هيمينات الخلية	الالكترونات	الهيمينات	الدم .

الفصل الخامس

عزل وتنقية الاحياء المجهرية

Isolation and Screening of Microorganisms

1. مقدمة
2. مصادر الاحياء المجهرية
3. الفريلة
- 1.3. الفريلة الاولى
- 2.3. الفريلة الثانية
4. انتخاب السلالة وتحسينها

يعد نوع الكائن المجهرى المستخدم صناعيا مفتاحا لنجاح أو فشل العملية التخميرية فهو المحفز الذي يعمل لاعطاء الناتج المرغوب ، اذ ينبغي أن تكون له صفات أو مميزات عامة اذا اريد للعملية التي يحدثها أن تكون ممكنة الاجراء ، بصرف النظر عن طبيعة الناتج وبساطة أو تعقيد العملية الهندسية . ومن الصفات التي ينبغي توفرها في السلالة الميكروبية المختارة الاتي :-

1. ان تكون ثابتة وراثيا ، أي لا تنتج تلقائيا أنواعا مغايرة في الصفات .
2. أن تنتج بسهولة خلايا خضرية أو سبورات أو وحدات تكاثرية أخرى . ونظرا لان البازيديومايستيات تنتج فقط ميسليوم ، فانها نادرة ، ان لم يكن ابدا ، ما تستخدم في التخمرات الصناعية .
3. ان تنمو بنشاط وبسرعة بمد التلقيح في أحواض البذور او الاوعية الاخرى المستخدمة لتحضير الكميات الكبيرة من اللقاح قبل بدء التخمير الصناعي .
4. ان تكون مزرعة نقية ، ليس فقط خالية من الاحياء المجهرية الاخرى المرئية ميكروسكوبيا ، وانما أيضا خالية من الفاجات **Phages** .
5. ان تعطي الناتج المطلوب خلال فترة قصيرة من الزمن ، ويفضل ذلك في ثلاثة أيام أو أكثر .
6. أن تعطي الناتج المرغوب دون تكوين مواد سامة ، كما ينبغي ان يكون هذا الناتج سهلا الفصل عن كل المواد الاخرى .
7. ان تكون قادرة على حماية نفسها من التلوث قدر الامكان ، اذ قد تأخذ الحماية الذاتية شكل خفض الـ pH أو النمو على درجة حرارة عالية أو سريعة التطور لمثبط ميكروبي مرغوب فيه .
8. أن تكون سهلة الاحتفاظ بها لفترات طويلة ومعقولة من الزمن .
9. ان تكون سهلة الانقياد للتغير بواسطة عوامل تطفر معينة ، لذلك قد يتم مواكبة برنامج تطفري بهدف تطوير سلالات تعطي حاصلا متزايدا من الناتج .
10. أن تعطي كمية يمكن التنبؤ بها من الناتج المرغوب في وقت تخميري معين . والاحياء المجهرية التي تلبي هذه الصفات ، أما أن تكون معزولة من الطبيعة

أو مستحصلا عليها من مجموع مزرعي (بنك سلالات Culture Collection . ويستلزم عزل وتنقية وغزيلة واختبار مزرعة ما من الطبيعة وجود شخص متخصص ومتدرب . ونظرا لوجود نقص في مثل هؤلاء الناس المتدربين على العزل والتنقية في البلدان النامية ، فيبدو للعيان ان المجموعات المزرعية هي افضل مصدر للاحياء المجهرية لاقامة صناعة تخميرية . وبنفس الوقت فان الوقت الطويل والمال الوفير لن يضمن النجاح . وللحصول على المزرعة المناسبة ، ينبغي عزل الكائن الحي المجهرى في بعض الاحيان من بيئة مناسبة خاصة التي قد لا تتواجد في بلد معين . وعلى سبيل المثال *Blakeslea trispora* التي تنتج كميات كبيرة من بيتا - كاروتين لا يمكن عزلها من المناطق المعتدلة ، بل يجب على الواحد ان يبحث عن سلالات برية في المناطق الاستوائية تنمو على ازهار نباتات راقية معينة . ولمثل هذه المزارع ، تمد المجموعات المزرعية دائما المصدر المنطقي الوحيد .

2. مصادر الاحياء المجهرية Source of Microorganisms

يمكن عزل الاحياء المجهرية عشوائيا من مصادر طبيعية مختلفة واختبار كل على حدة من ناحية قدرتها التخمرية ، الا ان فرص ايجاد واحدة منها ذات قيمة بواسطة هذه الوسائل تكون غير كبيرة . ويملك عدد قليل فقط من المجموع الميكروبي الطبيعي الميزات والخصائص المرغوبة . اذن لايجاد كائن حي مجهرى يمكنه القيام بما نريد من فعاليات ليس بالامر الهين .

ومن اكثر الطرق نجاحا في ايجاد مثل هذا الكائن الحي المجهرى هو استخدام تقنية معينة تسمح بالحصول على عدد كبير من الاحياء المجهرية واختبارها دون الحاجة لاجراء دراسات واسعة عن كل كائن حي مجهرى لوحده . مثل هذه التقنية تكون متيسرة وتعرف بالفرز Screening . وتستخدم طريقة الفرز بصورة مختلفة تعتمد على : نوع الكائن الحي المجهرى المرغوب ، والنتائج المعين ذي الاهمية ، واخيرا على المصدر الذي تم منه الحصول على الكائن الحي المجهرى .

ولجعل طريقة الفرز ذات استخدام مؤثر ومفيد ، يجب ان يكون لنا اولا مدخل الى المصدر الميكروبي الطبيعي الذي يحتوي على انواع عديدة مختلفة من الاحياء المجهرية ، سواء كانت غالبة هذه الاحياء معروفة ام غير معروفة لامتلاكها

للتدرات التخليقية التي نهتم بها . ان افضل مصدر يمكن منه الحصول على عدد متنوع وواسع من الاحياء المجهرية هي التربة . اما المصدر الاخرى التي لم يسبر غورها بعد الى حد كبير فهو البحر والطين البحري . والامثلة على المصادر الميكروبية الطبيعية الاخرى هي : الغضروات الطازجة والمتخمرة والمتعفنة ، والنباتات والحيوانات الحية ، ومياه المجاري ، والاغذية الطازجة والفسادة والى ما شابه ذلك .

السؤال الان هو لماذا تعتبر التربة المصدر المثالي الذي نحصل منه على انواع مختلفة من الاحياء المجهرية ؟ ان الجواب واضح ، اذا اعتبرنا ان اكثر انقاض العالم تجد طريقها الى التربة وهناك تتحلل بواسطة كائن حي مجهرى او باخر . اذن يمكن ان تعتبر التربة كخوض تخمن طبيعي مائل اذ تشترك احيائها المجهرية في تهديم وإعادة تخليق المواد العضوية البسيطة الى معقدة ، وفي اكسدة واختزال وتغييرات كيميائية اخرى للمواد اللاعضوية . وعادة اكثر من نوع واحد وغالبا عدة انواع من احياء التربة المجهرية تكون قادرة على اجرام كل هذه التحولات الكيميائية او الكيميائية الفردية .

وكما عرفنا انواعا مختلفة عديدة من الاحياء المجهرية موجودة في التربة ، فليس من الواضح الان وحتى وقتنا هذا كم هي نسبة الاحياء المعزولة في مزارع مختبرية نقية . وقد قدر مشتغلون عديدون ان طرق عد الطبق والزل للعدد الكلي وانواع احياء التربة المجهرية حتى ولو كان ذلك باستخدام افضل البيئات المعزولة وظروف التحضين ، من المحتمل ان يكون اقل من 1% فقط من احياء اترية المجهرية قد تمت تنميتها في المختبر . وهذا يعني ان 99% او اكثر من احياء التربة المجهرية لم تتم تنميتها بعد في المختبر . وعليه فان هذه الاحياء المجهرية تنتظر من يقوم بتهيئة بيئة وظروف مزرعية مناسبة تسمح لها بالنمو في المختبر .

وكذلك تسمح التربة بدرجة معينة من التلاعب في المستويات النسبية لمكونات مجموعها الميكروبي قبل استخدام طرق الفريلة والزل . فمستوى المواد الغذائية المتيسرة في التربة تكون عادة قليلة نسبيا ، في حين تكون المنافسة الميكروبية على هذه المواد الغذائية شديدة . فاذا اضيفت مادة معينة الى تربة رطبة ومن ثم تحضين التربة ، تحدث استجابة نمو اكبر نسبيا بين احياء التربة القادرة على

مهاجمة هذه المادة الغذائية ، وبالتالي تسهل عملية عزل هذه الاحياء المجهرية المعنية .
وبكلمة أخرى انه يمكن اجراء عملية اغناء او تدعيم Enrichment للتربة من
أجل الاحياء المجهرية ذات الاهتمام . وايضا فقد تحضن التربة في بيئة مغتبرية
سائلة لتدعيمها من أجل احياء مجهرية خاصة مناوله العزل .

2. الفريلة Screening

3. الفريلة الاولى Primary screening

تعرف الفريلة الاولى بانها استخدام طرق انتخابية عالية وذلك للكشف عن
الاحياء المجهرية المهمة فقط وعزلها من بين مجموع ميكروبي كبير .

ومن أجل ان تكون عملية الفريلة مؤثرة ينبغي أن تؤدي بخطوة واحدة أو
بعدة خطوات الى التخلص من العديد من الاحياء المجهرية العديدة القيمة ، وبنفس
الوقت تسمح بالكشف السهل عن نسبة مئوية قليلة من الاحياء المجهرية المعقدة
الموجودة في المجموع الميكروبي . وتتضمن العملية نقل كمية من المصدر الطبيعي
للأحياء المجهرية (كالتربة أو مياه المجاري أو أية مادة أخرى تحتوي على مجموع
ميكروبي كبير ومختلف) بعد اجراء التخفيف المناسب الى بيئة انتخابية
Selective medium يعقب ذلك تحضين المزرعة تحت ظروف معينة من
الحرارة والتهوية وال pH بحيث تشجع نمو الاحياء المجهرية المرغوبة من بين بقية
الاحياء الاخرى الموجودة . يلي ذلك أخذ كمية بسيطة من هذه المزرعة الابتدائية
ونقلها الى طبق آخر مجهز كالاول بنفس الطريقة ، ويستمر في العملية الى أن يسود
الكائن الحي المجهرى الذي يمكن ان يعزل في مزرعة نقية Pure culture.

وإذا كانت سلالة من *Clostridium* يمكنها انتاج الاسيتون - البيوتانول
من مسحوق الذرة مطلوبة لمثل هذه العملية ، فان خلطة معقمة من الذرة تلتح
بتربة أو بمياه المجاري أو بأية مادة تحتوي على مجموع بكتيري كبير . وتحفظ
خلطة الذرة تحت ظروف لا هوائية عند درجة حرارة تخمر مرغوبة مثلا 37 م° .
وإذا بدى بعدد كبير من الدوايق ، فان الدوايق التي تعطي مظهر نمو لا هوائي
تشبه التي لها رائحة المذيب تستخدم في تلقيح دوايق جديدة . وهذه بدورها
ستحضر الى حين ظهور مزرعة لها قدرة استثنائية على انتاج المذيب . وأخيرا يتم
زرع السلالة المختارة *Clostridium* على بيئة مسحوق الذرة تحت ظروف

كل سلالة في التخمر الصناعي المقترح الذي يكون فيه مسحوق الذرة هو المادة الاولى الاساسية . وتجري تقديرات عن الناتج من المذيب ومن ثم تنتخب أفضل سلالة للتقييم لغرض استخدامها في زيادة التخمر .

وهذه الطرائق المختلفة لا يمكن استخدامها دائما بسبب عدم معرفتنا من اين نبحث عن السلالات المناسبة أو بسبب عدم معرفة الطبيعة الفعلية للناتج المرغوب . ويعد البحث عن المضادات الحيوية Antibiotics مثالا على ذلك ، اذ دلت الابحاث المبدئية ان لسلالة Streptomyces امكانيات ممتازة في انتاج المضادات الحيوية . من الدراسات الاولى على احياء التربة ، فقد عرف ان التربة وخصوصا تربة الحدائق أو الارض المزروعة بالنباتات المشبية Grass-land soil لها عدد كبير ومتنوع من أنواع الاحياء المجهرية والطريقة المستخدمة في هذا المجال هو الحصول على عينات مختلفة وعديدة من التربة ومن مناطق بخرافية وبيئية متباينة . وتزرع هذه الترب على بيئة مناسبة لنمو ال Streptomyces والبكتيريا ، وتمزل الاعداد الضخمة من الاكتينوميستيات Actinomycetes . وغالبا ما يتأثر انتخاب المستعمرات من أجل عمل مزارع نقية بمعاملة تأثيرها المبط للمستعمرات البكتيرية والفطرية المجاورة أو المتاخمة لها . ويعتبر هذا العهد من السلالات المنتخبة في أطباق تجاء المرض الهدفي Target pathogen وبدرجة أكبر تجاء الاحياء المجهرية غير المؤذية والمعروفة بانها تسبب المرض الى حد كبير . وقد تم تحسين طريقة الفريلة لانتاج المضادات الحيوية باستخدام ما يسمى بكائن الاختبار Test organism وهو عبارة عن كائن حي مجهرى يستخدم كدليل على وجود نشاط معين للمضادات الحيوية . لذلك فان تخفيفات من التربة أو من مصادر ميكروبية أخرى تزرع على سطح بيئة صلبة (آجار) وتنمو المستعمرات المزلولة التي تكون بحدود 30-300 مستعمرة لكل طبق . وتحضن الاطباق الى أن يصبح قطر المستعمرات حدة مليمترات وبنفس الوقت يكون المضاد الحيوي قد تكون في تلك الاحياء القادرة على انتاجه . بعد ذلك يضاف معلق كائن الاختبار بطريقة ما على سطح الآجار وتحضن الاطباق لفترة أخرى للسماح لنمو كائن الاختبار . ويستدل على وجود نشاط تضاد حيوي

Antibiotic Activity بواسطة المناطق المثبطة النمو لكائن الاختبار حول المستعمرات المنتجة للمضادات الحيوية . ويمكن اجراء تقدير تقريبي للكميات النسبية من المضاد الحيوي التكون بواسطة المستعمرات المختلفة بقياس أقطار المناطق بالمليمترات المثبط فيها نمو كائن الاختبار . وبالتالي تؤخذ المستعمرات المنتجة للمضادات الحيوية وت عزل وتنقى قبل اجراء اختبارات اضافية .

ويمكن اتباع نفس الاسلوب بالنسبة لمعرفة الاحياء المجهرية القادرة على تخليق الفيتامينات والاحماض الامينية والاحماض العضوية واي مادة اىضية اخرى خارجيا . حيث تكون البيئة المستخدمة في التنمية ناقصة بالمادة الايضية تحت الدراسة . ومرة اخرى فان المصدر الميكروبي يخفف ويزرع ويحضان للحصول على المستعمرات ثم يستخدم كائن الاختبار (والذي يكون اختياره من الامور المهمة) للاستدلال على الميكروبات المنتجة لتلك المادة الايضية الناقصة من البيئة وذلك عن طريق قياس كثافة كائن الاختبار حول المستعمرات المنتجة لتلك المادة الايضية .
ونفس الشيء يمكن اجراؤه اذا اريد غربلة المصدر الميكروبي لايجاد الاحياء المجهرية القادرة على استخدام مصدر كربوني أو نتروجيني معين للنمو والتخليق -

هذه هي امثلة قليلة عن طريقة الغربلة الاولى ، لذلك فان احسن طريقة هي اخذ عدة مركبات عضوية ومحاولة تقدير كيف يمكن غربلة الاحياء المجهرية القادرة على انتاج هذه المركبات .

2.3- الغربلة الثانوية Secondary screening

ان الغربلة الاولى تسمح بالكشف عن الاحياء المجهرية وعزلها وخاصة التي تمتلك قدرات تطبيقية صناعية مهمة . وعادة يعقب هذه الغربلة غربلة ثانوية من أجل اختبار اضافي للقابليات ولحسب المعرفة عن هذه الاحياء المجهرية . وبالرغم مما يتم عزله من الاحياء المجهرية بالغربلة الاولى ، فان القليل منها يكون ذا قيمة تجارية حقيقية ويرجع السبب الى أن الغربلة الاولى تعدد اياها من الاحياء المجهرية يكون قادرا على انتاج المركب بدون اعطاء اية فكرة عن الانتاج أو القدرة الانتاجية للكائن الحي المجهرى .

وفي المقابل فان الغريلة الثانوية ممتاز بالاتي :

1. تسمح بفرز اضافي لتلك الاحياء المجهرية التي لها قيمة حقيقية في العمليات الصناعية ونبت تلك التي تنقصها هذه الامكانية .

2. تتم الغريلة الثانوية في اطباق آجار ، أو في دوارق أو مخمرات صغيرة تحتوي على البيئات السائلة ، أو بالجمع بين هذه الطرائق . وعادة يفضل استخدام المزرعة السائلة لان الاخيرة تعطي صورة افضل للاستجابات الغذائية والفيزيائية والانتاجية للكائن الحي المجهرى الى الظروف الفعلية للتخمر الانتاجي .

3. قد تكون الغريلة الثانوية في أسلوب اجرائها وصفية أو كمية . فالطريقة الوصفية تدلنا على مدى الاحياء المجهرية الحساسة للمضادات العيوية المكتشفة حديثا . في حين تدلنا الطريقة الكمية على الناتج المتوقع من المضاد الحيوي عندما ينمى الكائن الحي المجهرى في بيئات مختلفة متعددة .

4. تعطي الغريلة الثانوية معلومات متنوعة ضرورية من أجل تقييم القدرة الحقيقية للاحياء المجهرية للاستخدام الصناعي . وعلى سبيل المثال فان الغريلة الثانوية تحدد ماهية أنواع الاحياء المجهرية المشتركة وفيما اذا أمكن تقسيمها في الاقل الى عائلات أو أجناس . وهذه المعلومات ذات قيمة لاستخدامها في المقارنة بين الاحياء المجهرية المعزولة حديثا وبين تلك المذكورة في النشرات العلمية وبرامات الاختراع لقدرتها على انتاج منتجات التخمر المهمة تجاريا . وأيضا يؤدي تقسيم الاحياء المجهرية الى التنبؤ عما اذا كانت ممرضة للنبات أو الحيوان أو الانسان والتي ينبغي وضعها في الاعتبار أثناء التعامل مع هذه الاحياء المجهرية .

5. ينبغي أن تحدد الغريلة الثانوية ما اذا كانت الاحياء المجهرية منتجة فعليا لمركبات كيميائية جديدة لم تذكر سابقا ، أو كبديل ينبغي ان تحدد الغريلة الثانوية مدى امكانية إيجاد عملية أكثر اقتصادية لعمليات تخمر أصبحت معروفة الآن .

6. ينبغي ان تظهر الغريلة الثانوية عما اذا كان هناك pH أو تهوية أو احتياجات محددة أخرى مترافقة مع الاحياء المجهرية المعنية سواء لنموها أو لتكوين النواتج الكيميائية . وكذلك يجب أن تكشف الغريلة الثانوية عن مدى النبات

الوراثي العام للمزارع الميكروبية . لذلك فان الكائن الحي المجهرى يكون قليل القيمة اذا كان يميل للتطفر او للتغير بطريقة معينة بحيث يفقد قدرته على تكديس محصول عال من الناتج . وكذلك ينبغي ان تظهر ما اذا كانت مكونات البيئة المعينة ناقصة او قد تكون سامة لنمو الكائن الحي او لقدرته على تكديس نواتج التخمر . ويجب ايضا ان تظهر شيئا من الثبات انكيمياوي للناتج ، وذاثبية الناتج في المذيبات العضوية المختلفة . كما ينبغي ان تحدد الغلبة الثانوية ما اذا كان الناتج بسيطا او معقدا او حتى ذا تركيب جزيئي كبير . كما ينبغي ان تظهر مدى امتلاك الناتج للخواص الفيزيائية مثل الامتصاص في مدى الاشعة فوق البنفسجية والوميض Flourescence او خواص كيمياوية يمكن استخدامها للكشف عن المركب اثناء استخدام التحليل الكروماتوجرافي الورقي أو طرق تحليلية أخرى التي تعد هامة في التنبؤ بتركيب المركب .

7. خلال الغلبة الثانوية المصاحبة لبعض أنواع نواتج التخمر ، ينبغي اجراء تقديرات عما اذا كان التسمم العام للحيوان او النبات أو الانسان يمكن ان يمزى الى ناتج التخمر وخصوصا اذا استخدم (مثل المضادات الحيوية) في معالجة الامراض .

8. وينبغي ان تظهر الغلبة الثانوية ما اذا كانت الاحياء المجهرية قادرة على التغير الكيماوي لنواتج تخمراتها او حتى على هدمها . فالاحياء المجهرية وبسبب تكديس مستويات عالية من الناتج في المزرعة السائلة ، قد تنتج انزيمات تطبيقية Adaptive enzymes تهدم فائدة وقيمة الناتج .

مما سبق نجد انه يمكن للغلبة الثانوية توفير مدى واسع من المعلومات التي تساعد في تقدير أي من العزلات الميكروبية المختلفة تكون مؤهلة لان تصيغ ذات منفعة صناعية . ومن الواضح ان الغلبة الثانوية تساعد في التنبؤ بالوسائل المستخدمة في مواكبة الابحاث الاضافية على الاحياء المجهرية وعملاتها التخمرية .

4. انتخاب السلالة وتحسينها Strain selection and its improvement

حالما نتوصل الى أن سلالة أو نوعا معينا من الاحياء المجهرية يكون قادرا على انتاج مركب نافع تجاريا بنطاق يجعل العملية الميكروبيولوجية للانتاج تتنافس مع التغليق الكيماوي للمركب ، فان فحوصات عن سلالات اضافية من الكائن الحي

المجهري تعد الخطوة الطبيعية الاولى في عملية التطوير . ومن أجل الحصول أو الحفاظ على موقع اقتصادي تنافسي للتخمرات الجديدة أو الموجودة على التوالي ، غالبا يكون من الضروري ايجاد وسائل لزيادة الحاصل من ناتج التخمر بصرف النظر ما اذا كان ناتج التخمر مركبا كيميائيا أو خلايا ميكروبية .

صحيح أن التحكم بظروف التخمر سواء باستخدام أنسب كائن حي مجهري ، وبيئة : وتهيئة ، وتحريك ، ومضادات الرغاي ، والتحكم بالـ pH وحرارة والخب ، يؤدي الى زيادة في ناتج التخمر ولكنها مع ذلك ليست بالزيادة الكبيرة المرجوة . ويقود هذا الوضع الى محاولة تغيير التركيب الوراثي Genetic make-up للخلايا الميكروبية بحيث يؤدي ذلك الى زيادة تكوين ناتج التخمر .

ويمكن تغيير التركيب الوراثي للخلية بواسطة التطفـر Mutation ، والتجمع الوراثي الجنسي Sexual recombination ، والتحول المنقول Transduction والتحول Transformation ، وتحول الفاج Phage conversion وهكذا . من هذه العوامل السابقة يعد طريق التطفـر حتى وقتنا هذا من أكثر الطرائق استخداما للاحياء المجهريـة الصناعية . وفي الحقيقة أن برنامجا مستمرا من التطفـر والانتخاب غالبا ما يكون ضروريا خلال عملية التطوير وحتى خلال الانتاج التجاري للتخمر وذلك للحفاظ على موقعه الاقتصادي ، خصوصا عندما يصاحب ذلك معرفة وافية لمسار التخليق الحيوي المشترك ، وعليه فان استخدام الطفرات يمكن ان يصبح مجزيا جدا .

وقبل البدء في برنامج التطفـر والانتخاب يجب القيام بالاتي :-

1. الحصول على سلالة ميكروبية عالية الانتاج ومعرفة البيئة المثلى للانتاج .
2. التثبت من اننا نعمل مع أفضل تمثيل ممكن للمجموع الميكروبي العادي .
3. التثبت من أن جزء الانتخاب من برنامج التطفـر هو فعلا انتخاب طفرات مشتقة جديدة وليس انتخاب اعضاء من المجموع الميكروبي العادي والذي يمتلك طبيعيا قدرة انتاجية عالية أو انها طبيعيا تسبب في تكوين طفرات . وهذا يعني ضرورة تفكيك المجموع الميكروبي العادي الى خلايا فردية (أو مستعمرات مشتقة من هذه الخلايا) واختبار القدرة التخمرية لكل منها من أجل انتخاب ضروب Variants عالية الانتاج طبيعيا .

وتستخدم برامج التطفر والانتخاب الاشعة المؤينة ، أو الاشعة فوق البنفسجية ، أو عوامل الاكثلة Alkylating agents ، أو حامض النتروز ، أو مشابهاها البورين والبيريميدين أو العوامل الطفرة Mutagenic Agents الاخرى لتثبيت أو تغيير المادة الوراثية للخلية . وتستخدم هذه العوامل الطفرية بالمستويات المميتة للأحياء المجهرية بحيث يتم قتل حوالي 90-99% من المجموع الكلي . وهذا الموت يرجع جزئيا الى التأثير المميت للعوامل الطفرية وجزئيا الى حدوث طفرات مميتة للخلايا ، أي ان الطفرات تمنع تكوين مكونات هامة للأجهزة الايضية للخلية . وليس بالضرورة ان تكون جميع الخلايا الباقية على قيد الحياة طفرات وانما بنسبة مئوية ضئيلة جدا خاصة اذا استلزم الامر اختيار طفرة من الطفرات لاهتمام تخمر حقيقي ذي قيمة كبيرة .

لذلك من الضروري انتخا ب تلك الخلايا القليلة فقط والتي تكون قد اكتسبت طفرة عالية الانتاج والمهمة بالنسبة لنا من بين الخلايا الباقية على قيد الحياة . وهذا الانتخاب هو أصعب جزء من برنامج التطفر بسبب المشاكل التي تصادف في كشف الخلية التي اكتسبت طفرة مهمة من بين العديد من الخلايا الاخرى التي تعرضت للعامل الطفري . وتكون هذه المشكلة أقل حدة اذا كان برنامج التطفر قد صمم لانتخاب الاوكزوتروف Auxotroph (سلالة الكائن الحي المجهرى الذي يحتاج الى مواد غذائية مميتة لا تحتاجها السلالة الاصلية Prototroph التي نشأ منها) من بين السلالات التي تنطبق عليها الصفات القياسية للنوع أي Wild-type أو من بين مجموع الاباء المادي بدون اعتبار معين للقدرات الانتاجية للاوكزوتروف .

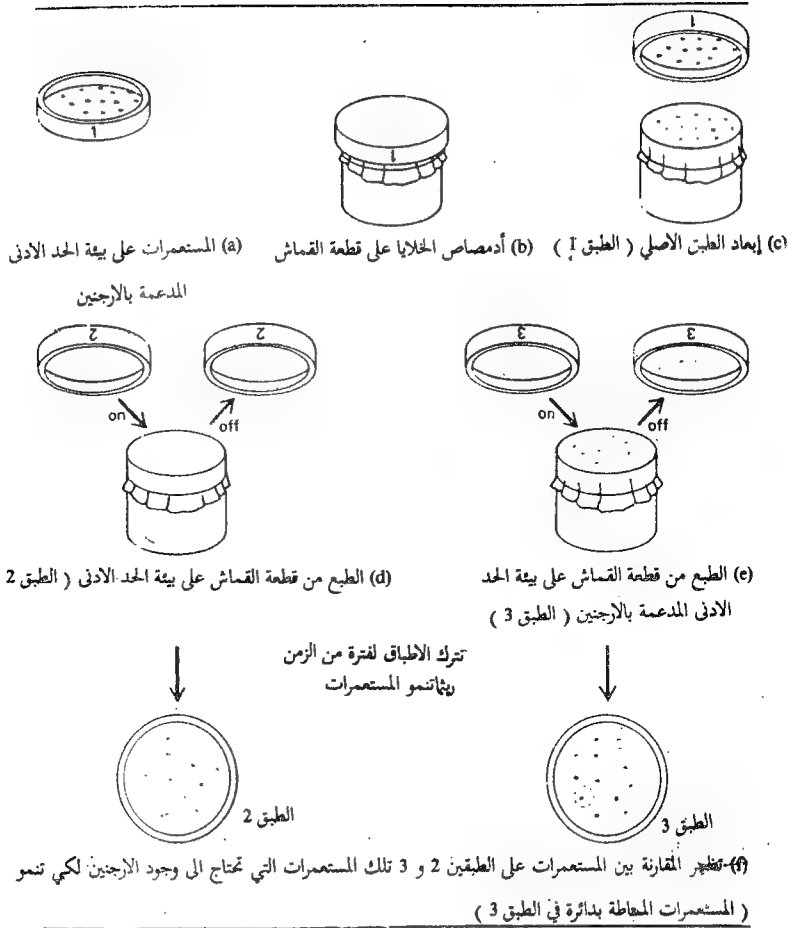
وقد أوجد Lederberg, Lederberg (1952) طريقة بسيطة تعرف باسم الانتخاب فيسر المباشر Indirect selection test أمكن بواسطتها اثبات حدوث الطفرات تلقائيا بعيدا عن الظروف الانتخائية للطفرات (كالمضاد الحيوي أو الفيروس البكتري) والتي تمنع تكاثر خلايا الاباء الحساسة وتسمح بنمو خلايا الطفرات المقاومة لها فقط . وبما أن معظم الطفرات تنشأ بمعدل قليل جدا يتراوح بين 10^{-10} - 10^{-4} ، فانه يلزم منع نمو الخلايا الاصلية الحساسة والكثيرة العدد اذا أردت مشاهدة هذه الخلايا الطفرية القليلة العدد ومن ثم عزلها ودراسة قابليتها التخمرية .

ولمزل الطفرات التلقائية مباشرة تمكن Lederberg, Lederberg (1952)

من ايجاد طريقة بسيطة تسمح بنقل أو طبع المستمرات النامية على الطبق الاصلي ، في نفس مواضعها ، على عدد من الاطباق المحتوية على بيئات انتخابية مختلفة . وتعرف هذه الطريقة بطريقة الطبع التكرار بالاطباق Replica plating . وتتم عملية النقل أو الطبع بالامتانة بقطعة من قماش القطنية Velveteen المقننة والمثبتة على قرص أو اسطوانة خشبية أو معدنية ذات قطر أقل قليلا من قطر أطباق بتري ، كما هو موضح في الشكل (1.5). وتستعمل عادة حلقة مطاطية أو معدنية لتثبيت قطعة القطنية جيدا على الاسطوانة . وعندما يوضع القرص فوق سطح الطبق الاصلي تتلاصق كل المستمرات وتنتقل كمية من كل مستمرة الى قطعة القطنية التي تصبح كأنها نسخة (أو كليشة) يمكن طبعها بدون تحريك لوضعها على سطح الاجار في عديد من الاطباق الاخرى المحتوية على البيئة الانتخابية المرغوبة . والنمو الناتج عقب اجراء التلقيح بهذه الطريقة يسفر عن مستمرات في نفس الامكنة التي كانت عليها في الطبق الاصلي .

ولما كانت الاطباق المحتوية على البيئات الانتخابية كل منها ناقصا في عامل غذائي معين فان اطباق الطبع ستظهر أي مستمرة لم تنم وتختلف عن الطبق الرئيسي " وبالتالي فان ذلك يعني ان هذه المستمرات تحتاج الى وجود العامل الغذائي في ذلك الطبق أو البيئة . وبعد ذلك تنقل المستمرات الاصلية الماثلة وتختبر للتأكد من أنها حقيقة تمتلك الاماعة أو التعطيل الايضى Metabolic block المرفوف ومن أنها قادرة على تكديس ناتج تخمري معين ذي انتاجية جيدة خلف هذا التعطيل .

وبصورة جوهريّة اذا لم يتم امتنباط نوع معين من غرلة التقدير الحيوي ، ينبغي اختبار جميع الخلايا أو على الاقل العديد من الخلايا التي بقيت على قيد الحياة بعد المعاملة بالعامل الطفري ، ويفضل ذلك أولا على بيئة أجار ثم في بيئة سائلة ، لقدرتها الانتاجية بالاضافة الى معدل تكوينها للناتج . وهنا تبرز مشكلة أخرى ، وهي ان البيئات الموزونة لتكوين ناتج التخمر من الخلايا الاصلية أو سلالة الـ Wild-type strain قد لا تكون ملائمة للطفرات الجديدة التي يتوخى منها ان تكون ذات قدرة انتاجية عالية . وكذلك قد لا تكون ظروف التخمر



الشكل (1.5). تقنية الطبع المتكرر بالاعلياق المستخدم في غربلة السلالات الطفرية التي تحتاج الى الارجنين .

متشابهة لذا ينبغي اختبار بيئة خفية أو عدة بيئات للكشف عن الطفرات العالية الانتاج وتقييمها •

والطفرة المتكونة حديثا قد لا تكون بالضرورة ملالة عالية الانتاج اذا زاد الثبات الوراثي خلال عملية التطفر لآباء الطفرات أو ملالة Wild-type لذلك فان انتخاب الاحياء المجهرية التي تقاوم العوامل الطفرية من أجل اولئك الذين يمتلكون ثباتا وراثيا متزايدا يكون صعبا ويحتاج الى اختبارات اضافية كثيرة •

الفصل السادس

مزارع الاحياء المجهرية النقية وطرق حفظها

Microbial Pure Cultures and Their Preservations

1. مقدمة
2. المزارع التخزين
 - 1.2 تخزين العمل
 - 2.2 التخزين الاساس
3. طرق الاحتفاظ بالمزارع النقية
 - 1.3 النقل على فترات في بيئات جديدة
 - 2.3 الحفظ تحت طبقة من الزيت المعدني
 - 3.3 الحفظ في التربة المعقمة
 - 4.3 حفظ المزارع بالتجفيد
4. مشاكل الاحتفاظ بمزارع صناعية ثابتة
5. مجموعات المزارع النموذجية

١. مقدمة Introduction

تمثل الأحياء المجهرية التي تتواجد في بيئاتها الطبيعية ، كذلك التي توجد في التربة والمياه أو تلك التي تعيش مختلفة أو متروكة على الانسجة النباتية والحيوانية الحية أو الميتة على الخنازير ، مصدرًا كبيرًا خيبر متجانس من الأجناس والأنواع الميكروبية المختلفة . وأما في كل نوع من أنواع الأحياء المجهرية بمفرده يشترك المصنوع على طريقة تسمى على نوع واحد فقط من الانقسام المجهرية . وتعرف هذه المزارع باسم المزارع الخبية Five cultures ، وهناك طرق أخرى : يمكن بواسطتها الحصول على مزارع نقية من الميكروبات الدوائية على وسائط مختلفة . Mixed population

١. أن تلتصق من الطور ، بالتالي :

١. طريقة التفتيط على : من المزارع المختلطة The streak plate method

٢. طريقة الغرب في : The pour , fate technique

٣. طريقة التخفيف المتتالي The serial dilution technique

٤. طريقة عزل الخلايا : The single cell isolation technique

ويمكن القاري المزرعة : أن تفسر هذه الطرق ، وكيفية إجرائها والتي تكرر في العديد من كتب الميكروبيولوجي ، أو لا يسمح بإجراء ذلك ما هنا وبعد دراسة طرق : أن كل عالم المزارع الميكروبية النقية ، يتطلب الأمر مادة معرفة كيفية الاستنباط : أي في حالة المزارع : الأنواع والشبكات لدرجات مختلفة من الزمن . لذلك ينبغي أن تكون هذه الظروف والطرق الخاصة لتكوين الكائن الحي المجهرى بدرجة :

1. أن تكون تشابه البنى الجزيئية لكل ما يمكن .
2. أن تكون بقاءها جيداً .
3. أن تعد من المزرعة الميكروبية : أن ذلك يستدعي إلى حدوث طفرات أو تغييرات وراثية غير مرغوب فيها .
4. المزارع المختلطة : أن تكون جيدة .

١. أن الأحياء الميكروبية التي : بقاءها جيداً أو تلك التي تعطي

أعلى ناتج تخمري للتخميرات القائمة بها تكون ذات قيمة كبيرة إذا أمكن تخزينها للاستخدامات المستقبلية بطريقة ما بحيث تبقى قدراتها على النمو والتكاثر بدون تغيير .

ويعد هذا صحيحا بالنسبة للسلاسل القائمة بالانتاج والسلاسل المستخدمة في التقديرات البايولوجية . وبالتالي فإن الحفاظ على المزارع الخزين يلعب دورا هاما في أبحاث وانتاج التخمير الصناعي .

وفي معظم المختبرات المايكروبيولوجية يحتفظ بعدد كبير من المزارع النقية للاحياء المجهرية المختلفة والتي تعرف باسم مجموعة المزارع الاصلية أو الخزين Stock culture collection . وتستخدم هذه المزارع في أغراض التدريس والبحث أو كمزارع قياسية لاختبارات معينة .
وهناك نوعان من المزارع الخزين :

1.2. خزين العمل Working stocks

وهي المزارع المستخدمة كثيرا التي ينبغي المحافظة عليها في ظروف نشطة وغير ملوثة . ويحافظ على هذه المزارع في صورة آجار مائل Agar slants أو آجار صمقي Agar slabs أو تحضيرات ميبورية Spore preparations أو مزارع سائلة Broth cultures ، حيث يتم حفظها بالتبريد . ويجب فحص هذه المزارع باستمرار لاي تغيير في صفات النمو ، والتقديرية ، والقدرة التكاثرية ، والتلوث .

2.2. الخزين الاساس Primary stocks

وهي المزارع التي يحتفظ بها كخزين للتخميرات القائمة حاليا وللتخميرات الجديدة ، ولاغراض المقارنة ، وللتقديرات البايولوجية أو لبرامج غريبة لاحقة . ولا يحتفظ بهذه المزارع في حالة عالية من النشاط الفسيولوجي . ويجري النقل من هذه المزارع فقط عندما يزداد تحضير مزرعة خزين عمل جديدة أو عندما يراد ثانياة زراعة مزرعة الخزين الاساس لتجنب موت الخلايا . وعليه تخزن مزارع الخزين الاساس بطريقة ما بحيث تحتاج الى اقل عدد ممكن من النقلات خلال مدة

من الزمن • ولا يعد موت نسبة عالية من الخلايا في مزرعة التخزين الاساس مشكلة خطيرة اذا كان من الممكن استرجاع خلايا قابلة للحياة عن طريق زرعها ثانية في بيئة جديدة • ويحتفظ بمزارع التخزين الاساس المخزونة على درجة حرارة الغرفة في تربة معقمة أو في بيئة سائلة بشرط تغطيتها بزيت معدني معقم • ويمكن أيضا حفظ مزارع الاجار أو المرق بدون زيت معدني بالتبريد ، كما ويحتفظ بالمزارع في الحليب أو الاجار بصورة مجمدة على درجة حرارة منخفضة • وقد تجند Lyophilization or freeze-drying هذه المزارع وتخزن على درجات حرارة منخفضة •

3. طرق الاحتفاظ بالمزارع النقية Maintenance and preservation of pure cultures

1.3. النقل على فترات في بيئات جديدة Periodic transfer to fresh media

وتسمى هذه الطريقة أيضا بطريقة المزرعة التخزين المفتوحة Open stock culture اذا يمكن الاحتفاظ بمزارع الاحياء المجهرية النقية عن طريق نقلها على آجار مائل Stant أو آجار عميق Stab جديد وممقم له نفس تركيب البيئة الاصلية وعلى فترات منتظمة • ويتم هذا النقل على فترات تختلف مدتها، تبعا لنوع الكائن الحي المجري • فكثير من مزارع الاحياء المجهرية غير ذاتية التغذية Heterotrophs يمكنها الاحتفاظ بحيويتها لفترة تتراوح بين عدة أسابيع إلى عدة شهور اذا ما تركت نامية على بيئة الاجار المغذي Nutrient agar في حين ان هناك بعض الاحياء المجهرية (مثل بعض البكتريا) وبخاصة الممرضة خلال مدة تتراوح بين اسبوع الى اسبوعين • وتبقى أنابيب هذه المزارع المحفوظة بهذه الطريقة مقفلة بواسطة سدادات قطنية أو اغطية معينة وتخزن المزارع على درجات حرارة منخفضة لمنع جفاف الاجار وللمنع من النمو قدر الامكان • لذلك يشترط للاحتفاظ بها حياة وذات قدرة على احداث المرض للعائل ان تجدد مزارعها عند اتباع هذه الطريقة يجب مراعاة ما يلي :-

(أ) نوع البيئة الغذائية المستعملة لكل نوع ميكروبي •

(ب) درجة حرارة التخزين •

(ج) الفترات التي تجدد عليها المزارع •

وتعد هذه الطريقة اقل طرق المزارع النقية دقة على الرغم من ان المزارع تبقى حية لمدة تصل الى ستة أشهر تحت التبريد وذلك لكثرة عمليات النقل الى بيئات جديدة . اذ ان كثرة عمليات النقل من هذه المزارع الى بيئات جديدة يصاحبه تكوين أجيال عديدة من الخلايا نتيجة للنمو والتكاثر مما يؤدي الى حدوث انتخاب لتغيرات وراثية غير مرغوب فيها في الكائن الحي المجهري . علاوة على هذه التغيرات فهناك امكانية تلوث المزرعة النقية بالاحياء الاخرى أثناء عمليات النقل المتكرر .

حفظ المصل تحت طبقة من الزيت المعدني

Preservation by overlying cultures with mineral oil

يمكن الاحتفاظ بالمزارع النقية لكثير من الاحياء المجهريه لفتترات طويلة اذا غمر سطح النمو بكمية كافية من زيت معدني معقم (زيت البرافين) . ويشترط ان يغطي الزيت المعدني كل السطح المائل من الاجار ، وللتأكد من ذلك تضاف كمية من الزيت ليصل مستواها الى حوالي سنتيمتر واحد فوق قمة الاجار المائل (الشكل

1.6)



الشكل (1.6) حفظ المزارع الميكروبية تحت طبقة من زيت معدني

وتختلف حيوية الاحياء المجهرية المحفوظة بهذه الطريقة تبعاً لنسوع الكائن الحي . الا انه يمكن الاحتفاظ بالمزارع التي تعامل بهذه الطريقة لمدة تصل الى عدة سنوات . وتتميز هذه الطريقة بإمكانية أخذ جزء من النمو المنمو في الزيت بواسطة ابرة تلتقيح Needle وتجهيد نموها مع الاحتفاظ بالمزرعة الاصلية .

الا ان لهذه الطريقة بعض المساوئ من أهمها هي مشكلة التخلص من الزيت المعدني قد يكون الاخير محملاً بعدد كبير من هذه الاحياء الممرضة وبالتالي يصبح الزيت المعدني وسيلة لتوزيع وانتشار هذه الممرضات في البيئة الخارجية . لذلك يجب التفكير بوسيلة لاعدامه والتخلص منه بطريقة علمية دقيقة .

3.3. الحفظ في التربة المعقمة Preservation in sterile soil

لهذه الطريقة استخدام واسع من أجل الحفاظ على المزارع الغزير للاحياء المجهريّة المكونة للسبورات . وفي الحقيقة ان الاحياء المجهرية التي لا تكون سبورات يمكنها البقاء حية في التربة المعقمة ، ولكنها قد تموت بصورة غير متوقعة بعد فترة من الزمن . وتحتضر التربة بخلط كمية كافية من الرمل مع تربة غنية مأخوذة من حديقة Rich garden soil وذلك لجعل التربة سهلة التفتيت والماملة . وتضاف كمية صغيرة من كربونات الكالسيوم الى التربة ثم توزع على إنابيب لها سدادات قطنية أو أغطية لولبية . ثم تعقم الانابيب لحين التأكد من ان محتوياتها قد أصبحت معقمة . يؤخذ حجم صغير من معلق كثيف للسبورات أو من مزرعة نامية نشطة غير مكونة للسبورات ويضاف الى التربة المعقمة ، وتطرد الرطوبة بالتجفيف تحت ضغط منخفض . والمزارع المحفوظة بهذه الطريقة يمكن تخزينها على درجة حرارة الغرفة لفترة طويلة من الزمن .

4.3. حفظ المزارع بالتجفيد Preservation of cultures by lyophilization

وتسمى هذه الطريقة أيضاً بالتجفيد بعد التجميد Freeze-drying وهي من أكثر طرق حفظ المزارع النقية استخداماً وأكثرها كفاءة إذ يمكن حفظ مزارع الاحياء المجهرية بهذه الصورة المبقدة لفترات طويلة قد تصل الى 20 سنة وأكثر .

وفي هذه الطريقة تجفف الخلايا بسرعة فائقة وهي مجمدة وذلك بوضع الخلايا المعلقة بمادة حاملة أو واقية مناسبة مثل السيرم البقري Bovin serum المعقم أو سيرم الدم أو الحليب أو محاليل سكرية معينة في أنابيب صغيرة Ampules مسحوبة القمة ثم تجمد بسرعة (كأن تنمر في مزيج من الثلج الجاف Dryice والكحول حتى تصل درجة حرارتها الى - ٨٧ م) ومن ثم توصل فوهة الانابيب الصغيرة الى جهاز التفريغ تحت ضغط منخفض جدا . وبعد التأكد من حدوث التفريغ وجفاف الماء بالتسامي تغلق الانبوبة بأحكام وذلك بتعريض عنقها الى لهب الاوكسجين والانبوبة لا زالت تحت ظروف التفريغ . وعندما الاستخدام فان المزرعة المجففة تعلق في كمية صغيرة من بيئة النمو ومن ثم تحضن على درجة الحرارة المناسبة .

وكما ذكرنا فان هذه الطريقة تعتبر الطريقة المثلى لحفظ مزارع الاحياء المجهرية النقية وذلك :-

١) انها تحافظ على كميات كبيرة من الخلايا الميكروبية لفترة تخزين طويلة جدا .

ب) انها تشغل حيزا صغيرا بالنسبة لمكوناتها .

ج) يمكن خزن المزارع المجففة تحت ظروف خزن اعتيادية .

د) لا تتعرض للتلوث أثناء التخزين .

هـ) لا تحدث أية تغيرات وراثية نتيجة للحفظ بهذه الطريقة .

وعند اتباع هذه الطريقة يجب مراعاة بعض الامور المهمة لكي لا تتأثر حيوية الكائن المجهرى وهو بحالته المجففة ، وهذه تتلخص في الاتي :-

١) طبيعة البيئة التي يعلق فيها الكائن الحي المجهرى .

ب) عمر الكائن الحي المجهرى .

ج) تركيز الخلايا في الملقق .

د) درجات التفريغ المستخدمة .

وبغض النظر عن الطريقة أو الطرائق المختارة لحفظ مزارع التخزين الاساس ، فمن الامة الكبرى ان تحفظ سجلات جيدة ووصفية عن هذه المزارع


وان توضع بعض المصقات عليها . فاذا عرف وسجل القليل من السلالات الميكروبية
المزولة حديثا ، فلا يمكن ان نأمل في تمييز التغيرات التي قد تحدث في تلك
المزرعة بعد فترة طويلة من التخزين .

4. مشاكل الاحتفاظ بمزارع صناعية ثابتة

نتيجة لتقدم علم المايكروبيولوجي والخبرة في معاملة المزارع الميكروبية من
جميع الانواع خلال هذه السنوات الطويلة ، ينبغي اتباع خطوات معينة حالما يتم
عزل الكائن الحي المجهرى في مزرعة نقية وذلك لضمان بقائه في حالة ثابتة .
هذه الخطوات يجب ان تتبع حال وصول المزرعة الى المختبر أو حال عزلها وقبل
معرفة قدرتها التخمرية أو أن تكون المعرفة فيها ناقصة ومن هذه الخطوات الواجب
اتباعها الاتي :-

1. فحص المزرعة تحت المجهر المعلق *Dissecting microarppe* لتحديد :

(أ) ان المزرعة تنمو بانتظام ، (ب) انها خالية من الاحياء المجهرية الاخرى ،
(ج) كانت حفا فان السبورات الناضجة تكون موجودة ، (د) ان تظهر المزرعة
كونها جنسا أو لربما نوعا معزولا أو مسمى عند استلامه . هذا الفحص سيحدد
الخطوة التالية الواجب اتباعها .

2. اذا ظهرت المزرعة بانها نقية ، واظهرت نموا نشطا ومنظما ، ولها
سبورات ناضجة ، فيجب في الحال تجفيد  زجاجات (امبولات) من الكائن
الحي المجهرى .

3. اذا عرفت السلالة بانها عضو لنوع أو جنس والذي تنجح معه دائما عملية
التجفيد ، فلا داعي للتأكد من قدرتها على الحياة . ومع ذلك من الامور المتبعة
حتى مع مثل هذه السلالة هو التضيحية بانبوبة تجفيد واحدة وتخفيف أو تخطيط
المزرعة على وسط نمو مناسب . وسيظهر فحص القدرة على النمو

Viability check ثلاثة اشياء :-

(أ) اذا كانت الخلايا باقية على قيد الحياة باعداد كبيرة ، (ب) اذا كانت التحضيرات
المجددة خالية من الاحياء المجهرية الاخرى ، (ج) اذا كانت المزرعة المجددة لا تزال

منظمة في النمو وتكوين السبورات • وإذا كانت السلالة المعفوظة لم تعقد من تفشل في تحمل هذه العملية • وفي حالة الفشل ، يجب ايجاد طريقة بديلة في قبل ، فان فحص القدرة على الحياة يكون ضروريا بسبب أن بعض الاحياء المجهرية حين تبقى مزعة الجيل الاول متيسرة وفي حالة جيدة •

4. اذا استرجعت المزرعة بنجاح من حالتها المفسدة أو من تحفيزات محفوظة بطريقة أخرى كالتجميد في النتروجين السائل ، ينبغي حفظ سجلات عن البيئة المناسبة للنمو وتكوين السبورات كما هو الحال بالنسبة للاحتياجات الخاصة كدرجة حرارة التحضين أو مدة التحضين أو الـ pH • وعلى سبيل المثال الفطر *Blakeslea trispora* (المستخدم في انتاج بيتا - كاروتين) يكون سبورات بمرحلة (3-4 أيام على 25 م) ولكن خلال 10 أيام غالبا ما تنبت السبورات في مكانها • وبالتالي يكون التجفيد عقب ذلك فاشلا تماما • الا ان العملية تصبح افضل اذا تم الحفظ بالتجميد عندما تكون السبورات قد وصلت توا الى مرحلة النضج •

5. يجب تخزين انابيب التجفيد على درجة حرارة 4-10 م ، وربما تفحص قدرتها على الحياة في نهاية كل 10 سنوات من التخزين •

6. عند اجراء التجفيد ، ينبغي فحص المزرعة بطريقة مناسبة لتحديد هويتها وقد يؤدي هذا الفحص في بعض الاحيان الى التعرف على النوع Species والضرب Variety ، في حين في احيان أخرى يؤدي فقط الى النوع والجنس التقريبي • وعليه فان السجلات قد تعمل بالتأكيد على اظهار الهوية التقريبية وذلك لانها :- (١) تجعل القائم بتنشيط المزرعة من جديد ، وربما بعد سنوات ، من معرفة ما تم حفظه •

ب (تجعل السجلات كاملة بدرجة كبيرة وبالتالي اكثر فائدة •

وفي بعض مجموعات الفطريات قد تؤخذ صور مجهرية Microphotograph

للفطر عند زمن التعرف • وهذه تعد طريقة ممتازة للتسجيل •

7. وفي نفس وقت عمل التحفيزات المجفدة ، ينبغي أن تكون السجلات كاملة وموضحة للنقاط التالية :-

(1) اسم الكائن الحي المجهرى (ب) مصدره اذا كان قد عزل من المختبر أو استلم من شخص ميكروبيولوجي آخر ، وفي الحالة الاخيرة يجب ذكر اسمه وعنوانه .
(ج) رقم التكاثر المخصص أو أي علامة مميزة معطاة له ، كرقم مؤقت أو أي رقم مختبري أو مجموعة اخر ، (د) موقع وأصل مصدر المادة (حيثما وجد الكائن الحي المجهرى في الطبيعة) ، (هـ) احتياجات خاصة - بيئة المحافظة ، ودرجة الحرارة المثلى ، وظروف أخرى ، (و) النواتج ذات الخواص الفريدة والكميات التقريبية الناتجة ، (ز) عدد المزارع المعمولة ، و (ح) المراجع اذا كانت السلالة المذكورة في بحث أو براءة اكتشاف .

ومن النادر جمع كل هذه المعلومات ، ومع الزمن فان معلومات اضافية تلزم لهذه السجلات ويمكن وضع المعلومات على كارتات تفهرس بشكل بسيط بحيث يسهل لاي كان ان يجد المزرعة بواسطة الرقم ، والمصدر ، والنتائج ، والاسم .

8. اذا كانت المزرعة لا تفي بالمتطلبات المذكورة في النقطة رقم (2) اهله ، فتتبع الخطوات التالية :- اذا كانت المزرعة نقية ولكنها تظهر تيجرات Sectoring يتم تجفيد المزرعة غير المنتظمة ، وكذلك تعزل الاشكال المختلفة بصورة منفصلة ثم يجفد كل نوع على حدة . وفي بعض الاحيان لا يمكن فصل المزرعة المختلطة Heterogenous culture الى مكوناتها . ان الغاية من تجفيد المزرعة المجزأة Sectoring culture هو محاولة حفظ كل الاجزاء المكونة لها وذلك لانه عند هذه المرحلة نحن لا نعرف أي جزء منها نحتاجه فعليا فيما بعد . واذا كانت المزرعة غير نقية فيجب استخدام طرائق للتخلص من اللوثات اما بواسطة التخفيف المتسلسل ثم أخذ المستعمرة الموزولة ، أو بواسطة أخذ عدد من السبورات من الرأس الثمري Fruiting head .

9. تستخدم دائما طريقتان مختلفتان للحفظ في نفس الوقت . وعلى سبيل المثال ، يحتفظ ببعض المزارع النظرية على الاجار المائل مع النقل على فترات علاوة على الحفظ بالحالة المجفدة . وكذلك تعد طريقتا الحفظ تحت زيت معدني وفي تربة معقمة من الاحتمالات الممكنة الاخرى في هذا المجال .

10. اذا امتلكت مزرعة مجددة ، ينبغي اتباع خطوات معينة للحصول على افضل

مزرعة • ومن المحتمل ان تكون القدرة على تكوين السبورات في تدهور ، لذلك فان سلسلة من اطباق التجفيف غالبا ما تنتج بعض المستعمرات التي تنمو بنشاط أو تعطي سبورات كثيرة بطريقة طبيعية • وفي بعض المزارع وخصوصا الاعفان ، قد يؤدي عزل السبورات من الرؤوس الفردية الى مزارع أفضل • وفي حالات أخرى قد يعود الفشل الى البيئة أو ظروف النمو • وعلى أية حال حتى مع المزارع التي تنمو وتكون اجساما ثمرية على بيئة تركيبية 'Synthetic medium' . فانها تفعل ذلك بصورة أفضل لو كانت البيئة محتوية على النتروجين وعوامل النمو في صورة مستخلص المولت أو الخميرة •

ومن المناسب ذكر عدد من المبادئ والاساسيات المهمة في تنمية الاحياء المجهرية وذلك لضمان بادئات نقطة وصحية وثابتة ، منها الاتي :-

1. للحفاظ على المزارع الخزائن فان بيئة غير معرفة كيميائيا ولكنها تعطي نتائج قابلة للتكرار تعد أفضل من البيئة التركيبية • فالكائن الحي المجهرى ، وكما هو موجود في الطبيعة ، ينمو دائما على مادة غير معرفة أو محددة • ومن المرجح ان تنتخب البيئة المعرفة او المحددة Defined medium جزءا معيناً من المجموع الوراثي • وقد تكون النتيجة خفض كمية الناتج المرغوب •

2. بصورة عامة ، ينبغي ان لا تكون بيئة المزرعة الخزين غنية بالمواد الغذائية أكثر من اللازم لتخليد المزرعة بدون تغيير •

3. دائما تكون المزارع الخزين معرضة لمجموعتين مختلفتين من الظروف • الاولى هي انها تكون مشجعة للنمو بسرعة وبنشاط ولفترة قصيرة نسبيا بواسطة تحضينها عند درجات حرارتها المثلى أو قريبا ، واذا كانت هوائية يسمح لها بحرية الوصول الى الهواء • وبالتالي يتم حثها لتبطن من ايضها بحفظها لفترة طويلة نسبيا في الثلاجة وفي بعض الاحيان بتحديد وصولها الى الهواء بقتل انايب الاختبار والدوايق واطباق بتري • اذ يوق الفلق أو القفل ايضا من فقد الرطوبة من المزرعة • ولا تكون هذه التغيرات مختلفة كثيرا عن تلك التي تواجهها في الطبيعة • وبصرف النظر فانها تبدو غير مؤذية للاحياء المجهرية •

ويعد pH الوسط مهما ، وعموما فان البكتريا تنمو في بيئة متعادلة ، وتنمو الاعفان في بيئة لها pH بين 6 , 7 والخمائر قرب pH 6 .

4. عندما يتم البدء بمزارع جديدة، يؤخذ لقاح من مزرعة ناضجة • وهذه تشمل على كمية بسيطة من نمو الخمائر أو البكتريا أو الاغفان وعلى عدد قليل من السبورات بدون الميسليوم •

5. مجموعات المزارع النموذجية ~~Type-culture collection~~

كما ذكرنا سابقا ان الجهد المبذول لاعطاء التخمير يكمن بالدرجة الاساس في الكائن الحي المجهرى الممين المستخدم ، بالاضافة الى الظروف البيئية والتركيب الوراثي • ومن المهم جدا المحافظة على تنجاس وعدم تغير الاحياء المجهرية وذلك تحت ظروف معينة تبقى على حيويتها وتقلل من فقدان صفاتها التخمرية • ان هذا العمل هو من وظيفة مختبر المجموعة المزرعية **Culture Collection Laboratory**

ويتبني أن يتضمن هذا المختبر ، غرفة مجهزة بهواء معقم يحافظ عليه تحت ضغط بسيط خلال الزرع والتلقيح • ويمكن إجراء النقل المقيم في المختبر اذا اتخذت احتياطات معينة للحفاظ على سكون الهواء وذلك بخلق النوافذ والابواب • وكذلك تجري عمليات نظافة وتطهير دورية للجدران والسقوف والمناضد والاناث وذلك لتقليل تلوث المزارع النقية • رغم وجود هذه المختبرات في أغلب الجامعات ومعاهد البحوث والمصانع الا انها لا يمكن اعتبارها مصدرا رئيسا لتوزيع المزارع النقية الى كل من يطلبها وبالاعداد المطلوبة • وعادة تقوم هذه المختبرات بارسال نماذج من مزارع الاحياء المجهرية الموجودة لديها الى من يطلبها من باحثين في الجامعات والمؤسسات الانتاجية بدون مقابل لاغراض البحث العلمي وبالتالي فانها لا تقوم بنشر قائمة دورية بما لديها من مزارع ميكروبية • وبنفس الوقت فان برامج التطوير للكشف عن احياء مجهرية جديدة وعزلها تكون محدودة لقلة الامكانيات المتاحة لها •

الا ان هناك عيئات وجهات رسمية وحكومية لها نشاط اكبر في هذا المجال ومتخصصة في الكشف والعزل وانتاج مزارع نقية للاحياء المجهرية ولها برنامج متخصص للبحث والاستقصاء عن اعداد كبيرة من الاحياء المجهرية ومدى استخدامها في الاغراض المختلفة • وتقوم هذه الهيئات باصدار قائمة دورية هما تمتلكه من مزارع الاحياء المجهرية ، وترسل هذه المزارع الى كافة انحاء العالم لمن يطلبها

وبشمن معين . كما تقوم هذه الهيئات بخدمات أخرى كالتعرف على الاحياء المجهرية التي يملها الباحثون في ارجاء المعمورة وكذلك حفظ المزارع الميكروبية بالتجفيد أو بطرق الحفظ الاخرى . وفيما يلي عدد من مجموعات المزارع النموذجية الوطنية في العالم :-

1. Commonwealth Mycological Institute, Collection of Fungus Cultures, Ferry Lane, Kew, Surrey, England.
2. Culture Collection of Algae and Protozoa, Botany School, Cambridge, England.
3. National Collection of Type-Cultures, Central Public Health Laboratory, Colindale Avenue, London, N.Y. 9., England.
4. National Collection of Yeast Cultures, Brewing Industry Research Foundation, Lyttel Hall, Nutfield, Nr. Redhill, Surrey, England.
5. Institute Pasteur, Paris, France.
6. Institute for fermentation, Microbiological Type-Culture Collection, 4-54, Juso-Nishinocho, Higashiyodogawa-Ku, Osaka, Japan.
7. Centralbureau Voor Schimmelcultures, Javalaan 20, Baarn, Netherlands.
8. The National Collection of Industrial Bacteria, Department of Scientific and Industrial Research, Torry Research Station, P. O. Box 31, 135 Abbey Road, Aberdeen, Scotland.
9. Centre de Collections de Types Microbiens, 19 Rue Cesar-Roux, Lausanne, Switzerland.
10. American Type-Culture Collections, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852, U. S. A.

11. Culture Collection Unit, Fermentation Division, Northern Utilization Research Branch, U.S. Department of Agriculture, Peoria 5, Illinois, U. S. A.
12. U. S. S. R. Antibiotics Research Institute, Moscow, U. S. S. R.

الفصل السابع

اللقاح أو الباديء

Inoculum or Starter

- 1 . مقدمة
- 2 . الاقلية أو التطبيع
- 3 . الاعتبارات المهمة في تحضير اللقاح أو الباديء

1 . مقدمة Introduction

يعد انتاج اللقاح أو الباديء من المراحل المهمة جدا في عملية التخمر الصناعي ومن الواضح انه اذا لقحت بيئة تخمر في حوض سعة 2000 هكتولترا بقطرة واحدة loopful من اللقاح ، فان ذلك يحتاج لوقت طويل جدا قبل مشاهدة حدوث نمو ملحوظ ويحتاج الى وقت أطول قبل التمكن من الكشف عن الناتج .

وعليه ينبغي تحضير لقاح أو باديء بتتابع مرحلي وذلك باستخدام أحجام متزايدة من البيئة . وتحتاج جميع خطوات تحضير اللقاح ، عدا الخطوة الابتدائية التي يتم فيها تلقیح البيئة مباشرة من المزرعة الخزين ، الى نقل كمية من اللقاح مقدارها 0.5-5 % بالحجم من الخطوة السابقة الى التالية في التتابع . وعند كل خطوة ينبغي أن ينمو الكائن الحي المجهرى بسرعة وباعداد كبيرة بحيث تكون المدة اللازمة للتحضين قصيرة نسبيا . كما ينبغي أن تتراكم نواتج التخمر بقلّة ، اذا حدث ان تراكمت خلال مراحل تحضير اللقاح ، وذلك بسبب ضرورة نقل الخلايا الى كميات اكبر من البيئة وهي لا تزال في أطوار نموها اللوغاريتمية وقبل حدوث تراكم طبيعي لنواتج التخمر .

وفي الحقيقة ، عادة ما تكون بيئة اللقاح موزونة من أجل اعطاء نمو خلوي سريع وليس من أجل تكوين الناتج .

2 . الاعتبارات المهمة في تحضير اللقاح أو الباديء

General Consideration in Inoculum or Starter Preparation

عادة تكون نسبة اللقاح المضافة الى حوض الانتاج بحدود 0.5-5 % وقد تصل في بعض الاحيان الى 20 % أو أكثر . ان النسب العالية من اللقاح تستخدم تحت ظروف تتواجد فيها مشبّطات النمو أو استرجاع طاقي ضعيف الى الخلايا ، كما هو الحال في تخمر البييكبريتيت - الخميرة - الجليسيرول ، حيث لا تسمح بحدوث نمو مضطرب للكائن الحي المجهرى في بيئة التخمر الانتاجي . وتوجد حالة مشابهة عندما يستخدم لقاح سبق تنميته من أجل تحولات انزيمية معينة ، مثل استخدام خلايا *Aerobacter aerogenes*

لتجهيز انزيم α, ϵ -diaminopimelic acid decarboxylase لارالة

كربوكسيل حامض α, ϵ -diaminopimelic acid وتحويله الى L-لايسين .

ان اضافة المستويات العالية والمتنوعة من اللقاح الى التخمر قد تقتضي ان يتم ترسيب خلايا اللقاح أو فصلها بالطرد المركزي أو بأية وسيلة أخرى لفصل الخلايا عن بيئة نمو اللقاح بحيث لا تسبب الاضافة الكبيرة للخلايا في حدوث تخفيف شديد لبيئة الانتاج أو تغيرات غير مرغوبة في ال pH ، أو الاحتفاظ بمواد مغذية غير مرغوبة أو نواتج أيضية متخلفة .

وتعد نوعية اللقاح وتكاثره من العوامل المهمة في زيادة الانتاج وفي الحصول على نتائج تجريبية جيدة في الاحواض الصغيرة المستخدمة في الدراسات البحثية . ومن أجل هذه الدراسات ، ينبغي وجود لقاح كاف ومتيسر من وجبة واحدة بحيث يمكن توزيعه بانتظام وذلك لجعل كل حوض يأخذ لقاحا مائلا . وعليه فان النتائج التجريبية من متغيرات سبقت دراستها في أحواض تخمير تكون نوعا ما عديمة القيمة اذا لفتت الاحواض بكميات متباينة من اللقاح أو بلقاح من نوعية مختلفة .

ومن الثابت انه ينبغي وجود أجيال عديدة من خلايا الاحياء المجهرية خلال عملية انتاج ابتداء من المزرعة التخزين حتى عملية التلقيح النهائية ، على شرط ان لا يتغير الكائن الحي المجهرى فسيولوجيا أو وراثيا خلال هذا التكاثر الخلوي . ومع ذلك فقد تحدث طفرات بين هذه الخلايا ، على الرغم من أن حدوث طفرة معينة عادة لا يكون كثيرا ، وعندما تحدث فانها عادة ما تكون قاتلة للخلية او انها لا توفر ميزة اختيارية للخلية في نموها التنافسي مع الخلايا غير المتطفرة . وبالتالي فان حدوث طفرة عند تكوين اللقاح لا يكون خطيرا بدرجة كبيرة الا اذا أدت الى اعطاء الكائن الحي المجهرى ميزة نمو محدودة وكذلك قدرة متفجرة لتكوين ناتج التخمر . وقد تنشأ مشكلة خطيرة اذا كان الكائن الحي المجهرى المستخدم في التخمر هو نفسه سلالة طفرة . والطفرات لا تكون ثابتة دائما ، وكثرة حدوث تطفر رجعي back mutation أو تطفر معين قد يكون عاليا ، وبالتالي فان اللقاح للاحواض الانتاج قد تحتوي على جزء مهم من الطفرات الرجعية . ومن الواضح أن ظروف التخمر وكذلك المبيئات تميل الى انتخاب سلالة تخمر طفرة

من أجل النمو أو ضد نمو الطفرات الرجعية التي تكون محدودة الفائدة في إنتاج لقاح من هذا النوع من الكائنات الحية . وينبغي التحكم بدقة وعناية متناهيتين بطريقة الاحتفاظ بالمزارع التخزين لسلاسل تخميرية طفرية ، بحيث أن أقل عدد ممكن من الطفرات الرجعية تجد طريقها الى إنتاج اللقاح .

ويشابه التأقلم أو التطبع الانزيمي في الاحياء المجهرية التغير الطفري ، الا أنه ليس صفة موروثية . فالكائن الحي المجهرى لا ينتج باستمرار مستويات عالية من الانزيمات لمهاجمة كل مواد التفاعل الموجودة التي لها المقدرة المتصلة لمهاجمتها . وانما ينتج فقط كميات من تلك الانزيمات التي هو بحاجة حقيقية لها . وبعض هذه الانزيمات قد تكون انزيمات تطعيمية adaptive enzymes تنتج فقط استجابة لوجود مادة تفاعل substrate يحتاج الكائن الحي استخدامها من أجل الطاقة والنمو . واذا حذفت مثل هذه المادة من البيئة او استنفدت ، فان الكائن الحي المجهرى في أجياله التالية يقلل انتاجه من الانزيم التطبعي الخاص . وغالبا ما تستخدم التخمرات الصناعية نشاطات الانزيمات التطعيمية للاحياء المجهرية ، وبالتالي فان هذه الانزيمات ينبغي ان تكون موجودة باكبر كمية ممكنة خلال الانتاج . لذلك يجب اخذ الحيطة من وجود مادة تفاعل معنة اما في جميع خطوات بناء اللقاح او على الاقل في المراحل النهائية . واذا لم يستوف هذا الاعتبار ، فقد يلاحظ تباطؤ واضح في النمو وذلك في حوض الانتاج مباشرة بعد التلقيح في حين تكون الاحياء المجهرية التطعيمية الانزيمات اللازمة لاستعمال مادة التفاعل المعنة .

ان نقل النمو الميكروبي من المزارع الخزائن الى البيئات السائلة ، وبدء النمو فيها قد يسبب ظهور بعض المشاكل في ما يتعلق ببداية بناء اللقاح . اذ تعلق الخلايا الغضروفية للبكتريا وسبوراتها في وسط مخفف ومعقم وذلك لاضافته الى البيئة السائلة ، وبالإضافة الى ما ذكر فان السبورات البكتيرية وخصوصا تلك التابعة لجنس *Clostridium* غالبا ما تحتاج الى معاملة أو صدمة حرارية heat shocking لتشجيع نسبة عالية من السبورات على النمو . وعلى سبيل المثال توضع السبورات ذات المقاومة العالية للحرارة مثل *Clostridium acetobutylicum* المستخدمة في تخمر الاسيتون - البيوتانول في ماء مغلي

لمدة 90 ثانية تقريبا قبل اضافتها الى قاع البيئة السائلة المادلة بالبخار حديثا . ومن الناحية الاخرى ، فان سبورات الاكتينومايسيتات والفطريات ليست مقاومة للحرارة على وجه الخصوص ولن تقاوم الصدمة الحرارية . لذلك قد يكون من الضروري انبات سبورات هذه الاحياء مسبقا في بيئة خاصة اذا كان هناك سؤال عما اذا كانت السبورات ستنمو في بيئة اللقاح العادية . ولكن عادة لا يعد مثل هذا الانبات المسبق *Pregermination* ضروريا .

وتحضر المعلقات السبورية للاكتينومايسيتات أو الفطريات باضافة مادة مخففة مناسبة كماء الحنفية المعقم الى الاجار النامية عليه السبورات ، يتبع ذلك حرك حر للسبورات بواسطة ابرة ذات عقدة Loop بحيث تصبح السبورات معلقة في المادة المخففة . ومع بعض الاحياء المجهرية قد لا تبتل السبورات بالماء وانما تميل للبقاء كغشاء على سطح الهياقات ، أو أن تطفو على سطح المحلول او تتسلق الجدار الداخلي لوعاء النمو بدون ان تعلق في المادة المخففة . ويمكن معالجة هذه الحالة باضافة كمية صغيرة من عامل ترطيب أو ابتلال غير سام مثل لوريل سلفونات الصوديوم الى محلول التخفيف .

وفي المقابل ، فان بعض التخمرات الفطرية الثابتة مثل تخمر حامض الستريك بواسطة الفطر *Aspergillus niger* يستلزم ان تكون السبورات طافية على سطح البيئة بحيث ان انبات ونمو السبورات سينتج حصيرة خيطية طافية . ويتم هذا بواسطة افراغ المعلق السبوري بعناية على جدران الوعاء المزرع بحيث أن السبورات تطفو عبر سطح البيئة السائلة ، أو بواسطة رش المعلق السبوري عبر سطح البيئة باستخدام مرشة atomizer . .

وقد تعالج الاكتينومايسيتات أو الفطريات التي تكون سبورات أو التي تكونها بضعف بطريقة مختلفة بحيث تنقل الهياقات المجزأة الى بيئة اللقاح السائلة . وتكسر الهياقات بالعك بقوة على سطح الاجار باستخدام الابرة ذات العقدة Loop وذلك لتجهيز معلق مائي للهياقات ، أو قد تمزق الهياقات في خلاط Waring blendor أو بأية آلة تهشيم ماثلة .

وقد يحدث تلوث أثناء انتاج الباديء ولكنه غير مميز ، أو قد يكون التلوث

كبيرا يسهل ملاحظته • لذلك ينبغي بذل كل المحاولات للكشف عن مستوى التلوث بحيث يكون لقاح أحواض الإنتاج شافيا تماما من التلوث •

وفي التخمرات التي تستخدم هياقات الاكيتونمايسينات والبطاطيات ، فسان مستوى عاليا من التلوث البكتيري يسهل ملاحظته في بعض الاحيان على صورة عكارة أو حتى على شكل رغوة •

ومادة يتم الكشف عن التلوث بواسطة الالتصاق الى الفحص المجهرى للتحضيرات المبيلة أو المصبوغة وكذلك زرع عينات اللقاح على بيئة تسمح بنمو الاحياء المجهرية الملوثة المشكوك بها •

وينبغي فحص اللقاح للتخمرات اللاهوائية من ناحية التلوث وذلك بزرعها تحت ظروف تخمير هوائية ولا هوائية وذلك للكشف عن وجود الاحياء اللاهوائية اختياريًا *facultative anaerobes* • وفي بعض التخمرات كتخمير الاستيون - البيوتانول بواسطة البكتريا *Clostridium acetobutylicum* توجد اساليب تخمرية مميزة تزودنا بكيفية معرفة وجود التلوث • ففي خلال نمو هذا الكائن الحي ، يوجد انتاج اولي لحامض الخليك والبيوتيريك يترافق مع تكوين انزيم تطبيعي لتحويل هذه الاحماض الى الاستيون والبيوتانول • وفي نفس وقت انتاج هذه المذيبات السابقة الذكر فان مستويات حامضي الخليك والبيوتيريك تنخفض بشكل ملحوظ وهذا ما يسمى بانكسار الحامض ، acid-break ، ويمكن ملاحظة هذه الظاهرة بتسحيح عينات متعاقبة من اللقاح أو مزرعة الانتاج مع قلوي متغف • لذلك فان لقاح هذا الكائن يجب أن يستخدم فقط بعد حدوث انكسار حامضي حاد ، ما دامت الاحياء المجهرية الملوثة تمنع حدوث هذا الانكسار •

3 . الإقلمة أو التطبيع Adaptation

عند تحضير لقاح أحد الاحياء المجهرية لاستخدامه في تخمر معين ، قد يحضر اللقاح بتنمية الكائن الحي المجهرى في كمية صغيرة من بيئة الانتاج نفسها ومن ثم التخمين على أمثل ظروف تنمية من حرارة و تهوية و pH وتركيز مواد مغذية • وبعد ذلك يتم بناء اللقاح في سلسلة من النقلات الى بيئات من نفس النوع

وباعتماد متزايدة للوصول الى الحجم المناسب لتلقيح بيئة الانتاج الرئيسية .

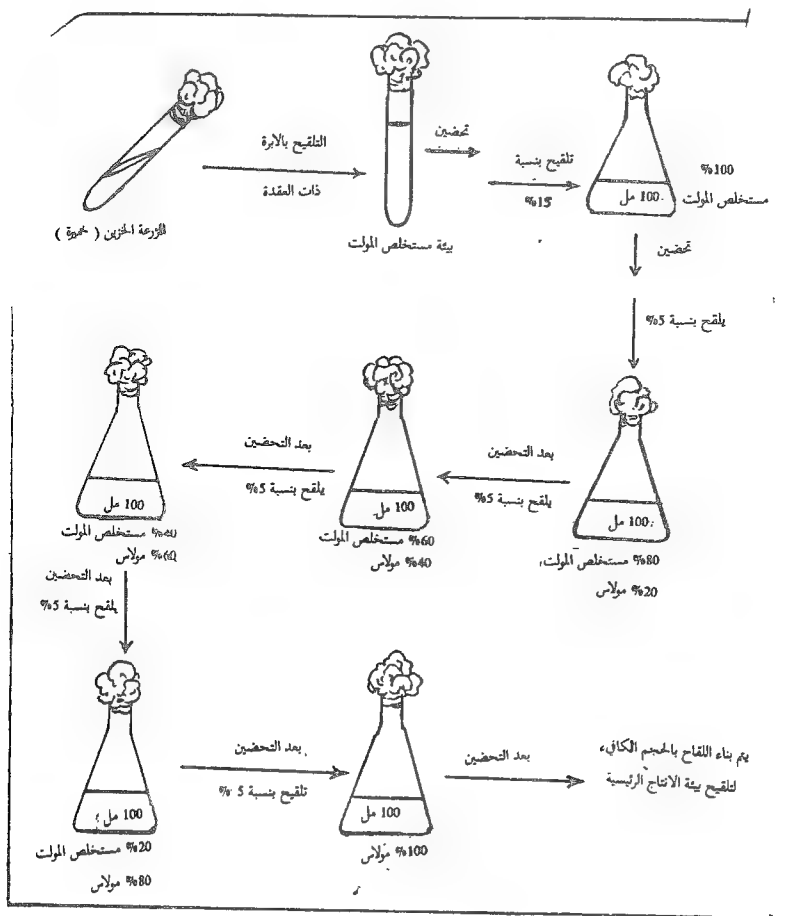
ولكن في بعض الاحيان قد لا تستجيب بعض الاحيان المجهرية لظروف النمو في بيئة الانتاج نفسها أثناء تحضير اللقاح ، وبالتالي فان اللقاح الناتج يكون ضعيفا وغير قادر على احداث تخمر فاعل في بيئة الانتاج الرئيسية . ولما لجة هذه الحالة ، قد تضاف بعض المواد المغذية وعوامل النمو لث واسراع نمو الكائن الحي المجهرى وتكوين اعداد كبيرة من الخلايا القادرة على انجاز التخمر في حوض الانتاج .

وفي احيان أخرى يجب تعويد الكائن الحي المجهرى على الاستفادة من مكونات بيئة الانتاج كمصدر للطاقة والكربون تدريجيا وذلك أثناء بناء اللقاح ، ويطلق على هذا التعويد بالاقلمة أو التطبيع adaptation .

وتجرى العملية بتلقيح أنبوبة اختبار أو دورق يحتوي على بيئة النمو النموذجية لنمو الكائن الحي المجهرى وذلك باستخدام المزرعة التخزين ومن ثم التحضين على أفضل ظروف تسمح بتزايد عدد الخلايا في المزرعة . وبعد ذلك تأتي مرحلة تطبيع الكائن الحي المجهرى لكي ينمو ويتكاثر في بيئة الانتاج تدريجيا بحيث يصل في النهاية الى التطبيع على البيئة الجديدة ، اذ يمكن بناء كمية لقاح تكفي لتلقيح الحجم الكلي لبيئة الانتاج .

وعلى سبيل المثال ، عند انتاج خميرة الخباز Baker's yeast من بيئة المولاس فان الامر يحتاج الى تطبيع سلالة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* على النمو في بيئة المولاس كما في الشكل (1.7) . والعملية تتم بتلقيح انبوبة اختبار تحتوي على بيئة مستخلص المولت malt extract ثم التحضين على أفضل الظروف . وبعد ذلك يلقح دورق يحتوي على 100 مل من نفس البيئة بنسبة لقاح 5% بالمجم في البيئة ويحضن على نفس الظروف . وبعد انتهاء التحضين يلقح دورق آخر يحتوي على 100 مل من بيئة تحتوي على نسبة عالية من مستخلص الخميرة ونسبة منخفضة من المولاس ويحضن . وتعاد العملية بحيث ان نسبة مستخلص الخميرة في الخليط تتناقص وفي نفس الوقت تتزايد نسبة المولاس لغاية الوصول الى بيئة تحتوي على 100% مولاس . ومن هذا

الدورق الاخير يمكن مضاعفة حجم اللقاح المتكون حتى الوصول الى الحجم المناسب والكافي لتلقيح بيئة الانتاج الرئيسة . وبذلك تكون الخميرة قد تطبعت وتأقلمت على النمو في بيئة المولاس وتكون نشطة وفعالة في الاستفادة من مكوناته لاعطاء الناتج المرغوب .



الشكل (1.7) - خطوات تطبيع الخميرة لانتاج اللقاح

الفصل الثامن

التقليب والتهوية في التخميرات الصناعية

Agitation and Aeration in Industrial Fermentations

- 1 . مقدمة
 - 2 . المزارع الساكنة
 - 3 . تخمر الدورق المرجوح
 - 4 . التقليب والتهوية الميكانيكية
 - 5 . تداخل التقليب الميكانيكي مع التهوية
 - 6 . التصميم الاقتصادي للمخمر
- تكوين الرغاوي وطرق السيطرة عليها

لقد استخدمت تصميمات عديدة لمعدات التخمير من أجل انتاج مواد أيض الاحياء المجهرية . فالمخمر أو وعاء التخمير الذي تجري فيه العملية قد يكون انبوبة اختبار ساكنة Static test tube للمزارع البكتيرية السائلة ، أو دورقا مزرعيا يحتوي على فطر ينمو كحصىرة mat على سطح السائل المغذي أو دورقا هزازا أو مرجوح shake-flask تنمو فيه الاحياء المجهرية مغمورة في كمية صغيرة من بيئة التخمير التي تقلب أو تحرك agitated بالرج الميكانيكي للدورق ، أو اشكالاً واحكاماً لادوية مزج يتم رجها وتهويتها ميكانيكياً بطريقة ما بحيث تسمح بغمر النمو الميكروبي في بيئة التخمير .

ان وظيفة المخمر هو توفير ظروف بيئة مثلى لتكوين الناتج الايضى المطلوب وبأكبر كمية ممكنة . وهذا يتطلب توفير مواد قابلة للاستهلاك كالنيتروجين والكربون والعناصر المعدنية ، وعوامل غذائية مساعدة في بيئة يتم تهويتها بنسب صحيحة ودقيقة في الوقت المناسب ويحافظ عليها من خلال قيم مثلى لـ pH وجهد الاكسدة والاختزال ودرجة الحرارة . وتكون العمليات الايضية الجارية في المخمر معقدة ، ويتم تكييفها بواسطة نظام التقليب agitation والتهوية aeration المستغنى .

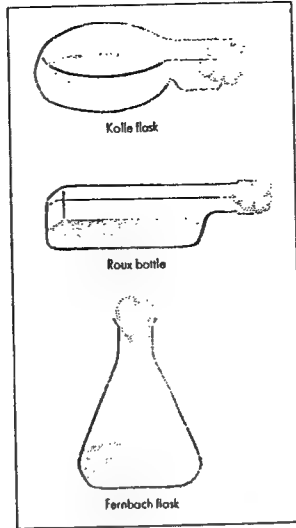
ان التجارب على النطاق الانتاجي في التخميرات الصناعية تكاد تكون محدودة ومكلفة ، وبالتالي فمن المتعاد تصميم نموذج لوحدة انتاجية بحيث يمكن اجراء عدد كبير من التجارب بدون فقد في السمة أو الطاقة الانتاجية . ومن الضروري جعل ظروف التشغيل لهذه الوحدة الانتاجية التجريبية مشابهة لما يحدث في المصنع الانتاجي الواسع النطاق . لذلك من الضروري مناقشة العوامل المؤثرة في التقليب والتهوية في اوعية مختلفة الانواع والاحجام .

ان التشابه الدقيق في اداء العمل بين اوعية المزج المختلفة الاحجام يكون غير ممكن ، لذلك على صانع النموذج أن يعمل عدداً من الافتراضات قبل العمل . وفي المادة يتم التأكيد في كل المخمرات ، وبصرف النظر عن الحجم ، على بقاء نسبة جميع الابعاد المناسبة والوثيقة الصلة بالموضوع واحدة . وبالرغم من افتقار

معرفتنا للميكانيكية المستخدمة ، الا أنه من الممكن استخدام طرائق رياضية لتحليل هذه الابعاد . مثل هذا الاستخدام لزيادة نطاق التقلب يسمح بحساب المتغيرات المهمة (كالطاقة الداخلة وسرعة التقلب وقطر القلب) ، ولكن هذا يمكن القيام به فقط بالنسبة للاوعية التي تمنع التداخل بالكامل *fully baffled vessels* في منطقة السريان المضطرب أو الدوامي *turbulent flow* . ويعود وجود الدوامات الى مانع التداخل غير الكامل أو غير الموجود والذي يظهر مشاكل صعبة الحل .

2 . المزارع الساكنة

من احدى طرائق التخمر التي لا تتضمن مشاكل عن الطاقة الداخلة هي طريقة المزارع الساكنة أو السطحية التي استخدمت في الابحاث المبكرة عن نواتج الفطريات . ويوضح الشكل (1.8) دوارق نموذجية للمزرعة الفطرية مناسبة للمزارع السطحية في بيئة سائلة ذات عمق 2 سم تقريبا .



الشكل (1.8) دوارق نموذجية مصممة لاعطاء اكبر مساحة سطحية من أجل التهوية

ويوفر أي وعاء معقم طبقة ضحلة مناسبة من البيئة يكون ملائما لهذه الطريقة . وفي السابق كانت وحدات الانتاج تبني من أنواع مختلفة من القناني أو السواني . اذ يستلم الجزم العلوي من غشاء المايسليوم مقدارا وفيسرا من الاوكسجين مع نقص في المواد الغذائية ، ولكن عند السطح السفلي للمايسليوم تكون الظروف على عكس ذلك ، حيث تكون المواد الغذائية غزيرة في حين يكون الامداد من الهواء محدودا .

ويوفر ورق المزرعة الفطرية عددا غير محدد تقريبا من ظروف التخمر المتغيرة ، تتفاوت بين غزارة المواد الغذائية الى النقص في المواد الغذائية ، وبين تجهيز وفير للاوكسجين الى تعايش لا هوائي anaerobiosis جزئي . ولهذه الاسباب فان انتاج مواد أيض الفطريات قد يتم في بعض الاحيان بسهولة كبيرة في دوارق المزرعة الفطرية ، وان كان بناتج أقل من ذلك المتحصل عليه من ظروف أكثر خصوصية ولربما ظروف غير متوافقة مع المخمرات الأكثر تعميدا . ويمكن تشييز ذلك بطريقة أخرى حيث تحاكي دوارق المزرعة الفطرية التخمر المستمر ذا المراحل المتعددة multi-stage continuous fermentation اذ تعطى المراحل الهوائية الابتدائية تدريجيا مكانا للظروف اللاحقة من نقص التهوية .

وتمقم الدوارق المزرعية المحتوية على بيئة التخمر ثم تبرد وبمد ذلك تلتقح يهدوم ويفضل أن يتم تلفيحها بالسبورات بحيث يطفو اللقاح على سطح السائل المغذي . وعندما تنبت السبورات تكون جزرا من النمو ، وهذه الاخيرة تندمج مع بعضها مكونة غشاء مسطحا الذي قد يصبح ملتفا على سطح السائل . وينبغي تجنب تمكيز أو تشويش الدوارق المزرعية وذلك لمنع الفشاء الفطري من الفوس .

ان النمو السطحي لدوارق المزرعة الفطرية يكون مشابها للنمو على بيئة الاجار ، اذ تتواجد السبورات عند السطح البيني بين الفشاء الفطري والهواء في حين يتواجد الميسليوم الفطري عند السطح البيني بين الفشاء الفطري والبيئة . وبالتالي تمد هذه البيئة مقيدة وذات قيسة في زرع الفطريات التي لا تنمو عادة بصورة جيدة في المزارع المنفورة مثل بعض البازيديومييسينات basidiomycetes

3 . تخمر الدورق المرجوج Shake-flask Fermentation

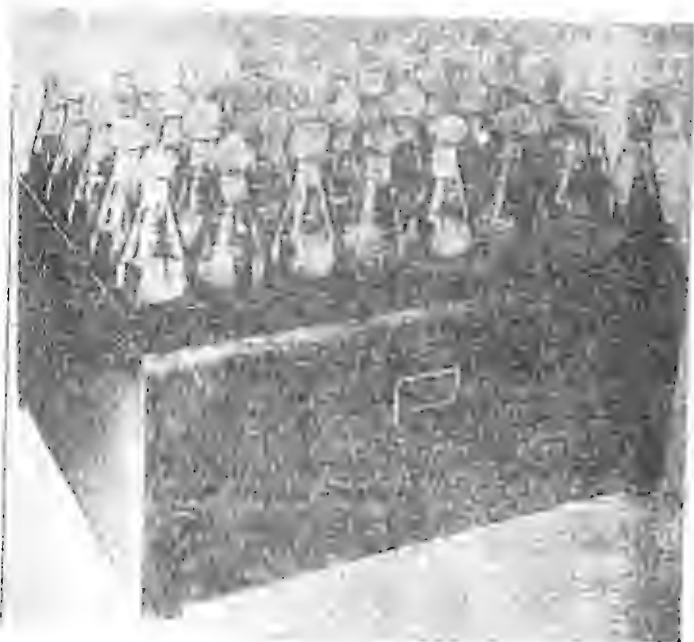
تعد طريقة المزرعة المعيقة أو المغمورة للتخمر الهوائي من ابتكار الشركات الصيدلانية الامريكية المتزعة للانتاج التجاري للبنسلين خلال السنوات الاولى من الحرب العالمية الثانية - وفي السابق اعتقد العديد من الخبراء أن الفطريات لا يمكن تنميتها مغمورة في بيئة سائلة مهواة - وعليه فان طريقة الدورق المرجوج أو المهرزوق shake-flask هي طريقة مشابهة تسمح بتخمرات هوائية مختبرية النطاق والتي يمكن اجراؤها بسرعة وبكميات قليلة من المواد المغذية ، وبذلك تؤدي الى تقييم السلالات الطفريّة mutant strains وكذلك البحث عن بيشات مناسبة .

ودورق الرج هو دورق مغروطي (يتفاوت حجمه عادة بين 100 ، 500 مل) والذي يمكن تحريكه كلية بوسائل ميكانيكية حول محيط دائرة (عادة قلمها 5 سم) مع تردد مقدر سلفا (قد يصل الى 220 دورة في الدقيقة) في حين يحافظ على المواقع النسبية لجدر الدورق والمتصة العاملة له بلا تغيير - وهذه الحركة الرحوية تقلب وترج السائل دون ان تبلل السداة القطنية ، وتزيح القوة النابذة centrifugal force على بيئة التخمر السائل الى طبقة رقيقة نسبيا مهواة بواسطة الانتشار خلال سطح السائل . وعادة تحتوي دوارق الرج ذات سعة 250 مل على 25-60 مل من البيئة ، ويثبت عمق السائل تبعا لكمية التهوية المطلوبة ، في حين لا تحتوي دوارق الرج سعة 100 مل على كمية تزيد عن 10-20 مل من البيئة . وتسمى الماكينة المستخدمة في تحريك دوارق الرج بالرجاج أو الهزاز الدوراني rotary shaker ، ويبين الشكل (2.8) والشكل (3.8) مزايا ميكانيكية تؤدي حركة دورانية أو رحوية لزيادة تهوية المزارع أثناء فترة الحضانة ويمكن السيطرة على التقليب والتهوية في دوارق الرج بأحدى الطرائق الثلاث التالية :-

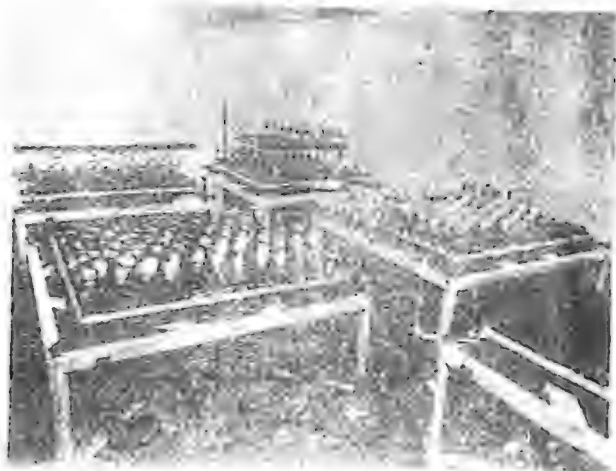
(أ) تناسب التهوية والتقليب عكسيا مع العمق (وبالتالي مع حجم السائل)
في الدورق المرجوج .

(ب) تناسب التهوية والتقليب طرديا مع كل من سرعة الدوران ومسافة

القلب length of through .



الشكل (٢٨٧) - لاسيكليني في البراء السباتية



الشكل (٢٨٨) - لاسيكليني في البراء السباتية

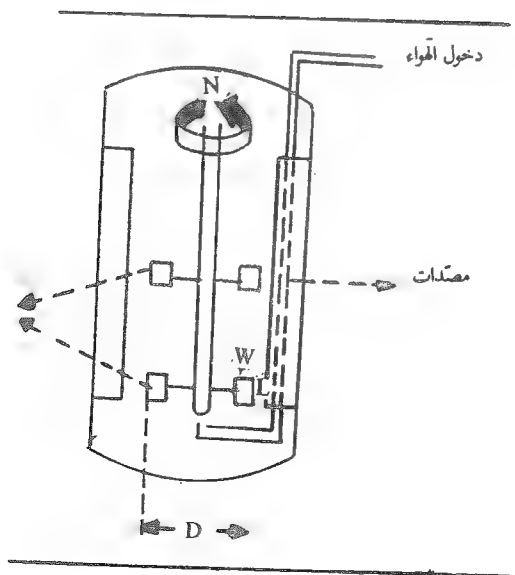
ج) تزيد الوسائل المانعة للتداخل baffles أو أية وسائل ميكانيكية من درجة التقليب والتهوية بواسطة أحداثها للاضطراب .

وتختلف ميكانيكية امتصاص الاوكسجين وأساليب السريان في دوارق الرج غير المجهزة بوسائل مانعة التداخل عن تلك الموجودة في المخمرات المحركة تحريكاً ضئيلاً Stirred fermentors . وتؤدي حركة الهزاز الى سريان السائل حول الجدار الداخلي لدورق الرج . كما تؤدي القوة النابذة المقدرة بواسطة سرعة الدوران ومسافة التدفق ، بالسائل لكي يصبح على شكل طبقة رقيقة يتعدد عمقها بواسطة قيم القوى المبذولة . وينفذ الهواء بحرية خلال السدادة القطنية للدورق لتهوية الطبقة السائلة بواسطة الانتشار ، وبكفاءة تعتمد على عمق السائل .

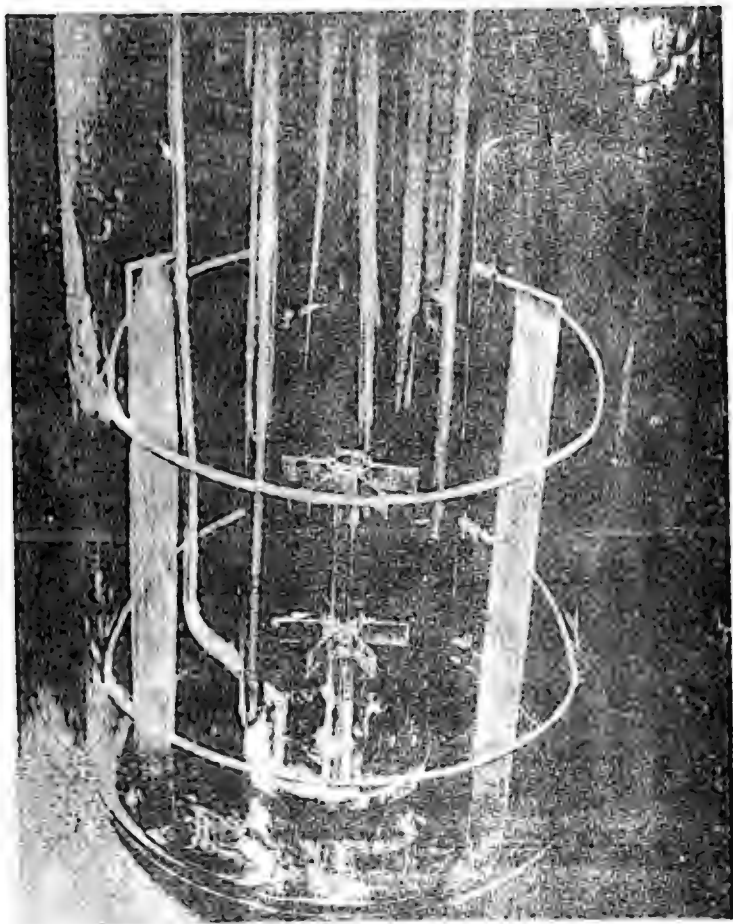
وقد تم تجربة تصاميم أخرى من الهزازات منها الهزاز الترددي reciprocating shaker (الذي يتردد الى امام والى وراء) مع نفس حركة وسرعة هزاز بالادينو Paladino Shaker وله كفاءة تهوية ماثلة ، ولكنه اقل فائدة وذلك لحدوث رش للبيئة على جدار الدورق وهذا في النهاية يصبح يغطي بالمزرعة السطحية للفطر . ويميل الهزاز الترددي الى تبليل السدادات بالبيئة اذا حدث ذلك ، يتبني تقليل التهوية ويصبح عقم sterility المرشح القطني الموجود في عنق الدورق غير مضمون .

4 . التقليب والتهوية الميكانيكية Mechanical Agitation and Aeration

يبين الشكل (4.8) رسماً تخطيطياً لمخمر نموذجي يقلب ويهوي ميكانيكياً بحيث يجهز درجة عالية من الاضطراب أو الدوامات في حين يوضح الشكل (5.8) صورة جانبية لنفس المخمر . ويقلب المخمر بواسطة الدوران عند عدد N من الدورات لكل دقيقة بدوارات توربينية متعددة الشفرات قطرها D ولها شفرات عرضها W وارتفاعها L . وتوضع مصدات مانعة لتدفق الغازات ، تشغل مسافة قدرها $\frac{1}{10}$ تقريباً من قطر الوعاء ، عمودياً على الجدار وبطريقة ما بحيث أن أربعة منها على الأقل تكون مرتبة بانتظام في كل مخمر .



الشكل (4.8) رسم تخطيطي لخمس مقلب ومهوى



المتن ۱۵۸: سوریه، جالبه، لیسر، مغرب و مهری

لذلك فإن معدل دوران شفرة الدوار ينبغي أن يكون كبيراً إلى درجة يسمح بمزج جيد للبيئة ولكن ليس كبيراً بالدرجة التي تؤدي إلى هروب الهواء من الرشاش بدون فوائده في البيئة لكي يستخدمه حائن العسل المعوي^٥

وكما كانت فقاعات الهواء الناتجة من الرشاش صغيرة ، وكانت المساعدة السطحية الكلية للفقاعات كبيرة زاد احتمال مرور اوكسجين الهواء حول حدود الفقاعة وذوبانه في سائل البيئة . نظرا لكون الهواء الدائم مادة لكتلة في التخمير الصناعي لذا ينبغي تثبيت حجم الفقاعات الهوائية لتعطي أكبر تهوية ممكنة بدون زيادة التكاليف الكلية للتخمير .

وفي بعض أحواض التخمر الكبيرة بهذا الاستخدام دوار ، لأنه تمسك البيضة
الانديفاع المبايض لفقااعات الهواء من الرشاشات الزائدة في الدوار ، وقد سببت هذه
الأحواض تكون ذات تصميم خاص وهي عادة لا تكون في الجدران المائتقة الغادات .

وفي اي مخمر ، عادة يكون حجم رشاش فقاعات الهوام ثابتا ولا يمكن تغيير معدل مريان الهوام خلال التخمر بتغير حجم فتحات الرشاش الا انه بالامكان تغيير معدل مريان الهوام بتغير الضغط على خط الهوام . ان القدرة على تغيير معدلات مريان الهوام التي تقاس عادة باحجام من الهوام لكل حجم من البيئة في الدقيقة الواحدة قد تكون من الاممية في التخمرات التي يتطلب فيها معدل ابتدائي عال من التهوية وذلك لبناء او تكوين مجموع خلوي كبير ، بعده يتطلب الامر ظروف تخمر لا هوائية .

5 . تداخل التقلب الميكانيكي مع التهوية

ان مناقشة تأثير التقلب في التهوية قد تكون تقريبية بسبب تغير الخواص الفيزيائية (كاللزوجة والكثافة) لبيئة التخمر خلال فترة التخمر . علاوة على ذلك فان اللزوجة الظاهرية للعديد من بيشات التخمر تتفاوت مع نوع وشدة التقلب (اي انها معاليل غير نيوتونية Non-Newtonian fluids)

وقد لوحظ في التطبيق الصناعي ان التقلب يحدد لدرجة كبيرة من كمية الناتج في التخمر الهوائي . وعند اي معدل لمريان الهوام يتجاوز الحد الادنى الحرج ، فان كمية الناتج تنخفض عندما يقل التقلب . وعلى العكس فان تناقصا مماثلا في مريان الهوام عند سرعة تقلب ثابتة لها تأثير بسيط على كمية الناتج ولهذا السبب فقد اقترح ان بالامكان التعبير عن التقلب والتهوية بصيغة طاقة كلية داخلية لكل وحدة حجم من البيئة . وهذا يقتضي ان يكون الشغل المبذول لكل وحدة زمن (طاقة داخلية) على كل وحدة حجم من البيئة بواسطة مريان الهوام كبيرا في المخمرات الطويلة مقارنة بالمخمرات القصيرة اذ تحتاج الاولى بالمقابل الى طاقة مقلب اقل .

ان ميكانيكية العملية التي بواسطتها يمر الاوكسجين من فقاعات الهوام عبر البيئة الى الكائن الحي المجهرى تتم حسب نظرية الانتشار خلال الافقية الرقيقة . ومن الضروري افتراض تواجد غشاء رقيق للمادة الثابتة نسبيا عند السطح البيني بين مطولين غير متماثلين ، حتى ولو كانت الكمية الرئيسية في حركة مضطربة

او دوامية • وبالتالي يتم نقل المادة من وجه الى اخر بميكانيكيتين : الحركة -
للسائل وانتشار الجزيئات خلال الغشاء الراكد نسبيا •

وينبغي لجزيئات الاوكسجين في فقاعة الهواء أن تعترض عدة أغشية رقيقة
لتصبح سهلة المثال من قبل الاحياء المجهرية النامية في البيئة :

(1) الغشاء الغازي عند محيط الفقاعة الهوائية ، ولهذا الغشاء تأثير بسيط في

معدل ذوبان الغازات القليلة الذوبان مثل الاوكسجين والنتروجين •

(2) غشاء السائل عند السطح البيني للغاز - السائل •

(3) غشاء السائل عند السطح البيني للسائل - الكائن الحي المجهرى وليس لهذا النوع

تأثير يذكر فيج مرور الاوكسجين ، اذ وجد نتيجة للتجارب ان معدل التنفس

لاغلب الاحياء المجهرية يكون مستقلا عن تركيز الاوكسجين المذاب • وبالتالي

هناك تركيز ادنى خرج وهذا قد يكون اقل من $\frac{1}{10}$ من تركيز التشبع

للاوكسجين في البيئة •

لذلك فان للمقلب ثلاثة وظائف هي : -

(1) تقليل حجم فقاعات الهواء وبذلك يزيد من مساحة السطح البيني المتيسرة

لنقل الاوكسجين •

(2) ابقاء السائل في حركة وذلك لجعل الاوكسجين المذاب والمواد الغذائية متيسرة

للكائن الحي المجهرى •

(3) ابقاء على درجة حرارة منتظمة •

6 . التصميم الاقتصادي للمغص

بصورة عامة يمكن تقسيم تنمرات الاحياء المجهرية الى مجموعتين : الاولى

تحتاج الى تهوية عالية والثانية تحتاج الى تهوية قليلة • فتقسم التنمرات المجهرية

التي تتطلب ضغطا متخففا من الاوكسجين micro-aerophilic (مثل :

انتاج الايثانول 2 , 3 - بيوتاندايول ، والاسيتون) تحتاج فقط الى تقليب كاف

للسيطرة على درجة الحرارة والتبادل الملائم للمواد الغذائية بين البيئة والكائن الحي

المجهرى •

فالطاقة المجهزة بواسطة الهواء المضغوط تكون دائما كافية لهذا الغرض وبالتالي عند التصنيع الميكانيكي غير ضروري الا خلال دورة التعميم .

والتصغرات التي يحتاج الى تهوية عالية (مثل : انتاج السيترولات واغلب المضادات الحيوية) يجب تغليبها بطاقة كافية لابقاء سيطرة منتظمة لدرجة الحرارة وكبرى فقاعات الهواء . للمحافظة على تبادل كاف للمواد الغذائية بين البيئة والكائن الحي المجهرى ولتجنب تكوين مناطق راكدة في البيئة (مثل : قرب جدار الخصى) .

علاوة على ذلك يجب ان تكون الدورات متباعدة نوعا ما وعموديا بحيث لا تتداخل أساليب دوراتها ، ولكن يجب ان تكون قريبة من بعضها على نحو كاف لتجنب تكوين مناطق راكدة في البيئة .

وخلال طور النمو لأكثر عمليات التصغير الصناعي تحدث زيادة في اللزوجة الظاهرية (المصلاية rigidity) للبيئة التي تميل لتكوين مناطق راكدة ، وهذا يمنع من الاحتياج وبالتالي يقلل من كفاءة التهوية .

وبخلاصة القول ، فان الوصول لأعلى انتاج في أية عملية تخمرية يتطلب تجاوز مجموع القوى لكل وحدة حجم منتجة بواسطة البيئة من القلب ومن الهواء لقيمة صفري معينة - وتكون هذه القيمة التقريبية أولا بواسطة تجارب صغيرة النطاق قبل تطبيقها على عمليات الإنتاج الصناعي الواسع النطاق .

7 . تكوين الرغوة وطرق السيطرة عليها Foaming and its control

تسبب التهوية والتقليب في البيئات السائلة في تكوين الرغوة . ويحدث ذلك خصوصا في البيئات المحتوية على مستويات عالية من البروتينات أو الببتيدات . وعلى العكس ، فان البيئات المتكونة اساسا من مكونات لا عضوية وسكريات نقية نسبيا تكون أقل استعالية في احداث الرغاسوي . فالبكتريا البروتيتوليتية (أي البكتريا التي تكسر البروتينات الى ببتيدات ومواد أخرى) تسبب مشاكل رغوة خطيرة جدا ، وذلك لان الرغوة التي تعود للببتيدات تكون ثابتة تماما .

وفي الحقيقة ، في التخمرات التي تستخدم أحياء مجهرية لا تسبب دائما مشاكل نتيجة لتكوينها الرغوي على بيئات عالية البروتين ، فان ظهور رغوة ثابتة قد يكون دليلا على حدوث تلوث بواسطة هذه الاحياء المجهرية . وعلى أية حال ، يجب السيطرة على الرغوة اذا اريد اجراء تخمر بطريقة مناسبة . واذا فشل التحكم بالرغوة ، فانها قد ترتفع الى الفراغ الراسي للمخمر وتجبر على الخروج منه مع الهوام المستهلك . وغالبا ما تسبب هذه الحالة في تلوث التخمر من الاحياء المجهرية المنتقلة بواسطة كسر بعض الرغوي التي بالتالي تسيل ثانية الى المخمر ،

المشكل (6.8) .

ويسبب الرغو المفرط مشاكل أخرى للتخمر . وفي أشد الحالات ، فان حجما كبيرا من البيئة قد ينقذ من المخمر على شكل رغوة . كما ان الرغوة الشديدة تميح التهوية لهروب الغاز الى الفراغ الراسي .

ان الطريقة المعتادة للسيطرة على الرغوي هي اضافة مواد مانعة للرغوي *antifoam agents* **المشكل (7.8) ،** بالرغم من أن شفرة دوار اضافية مركبة عاليا في المخمر قد تكون في بعض الاحيان مؤثرة في السيطرة على الرغوي .

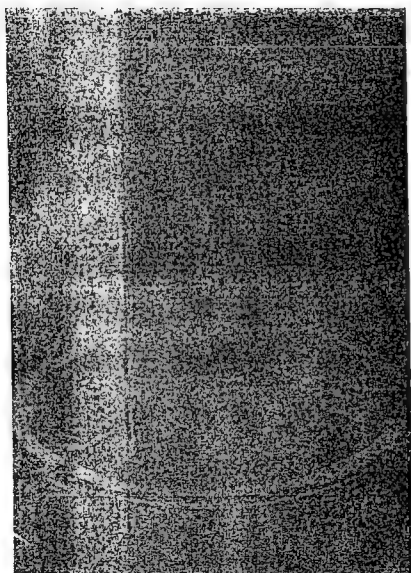


وتخفص المواد المانعة للرغوي من التوتر السطحي وبالتالي تقلل من ثبات فقاعات الرغوي في عملية التخمر بحيث تؤدي الى انفجارها . وقد تضاف المواد المانعة للرغوي عند توليف البيئة (قبل التعقيم) ، أو قد تضاف بعد التعقيم أو خلال عملية التخمر .

ويوجد نوعان من المواد المانعة للرغوي هما :-

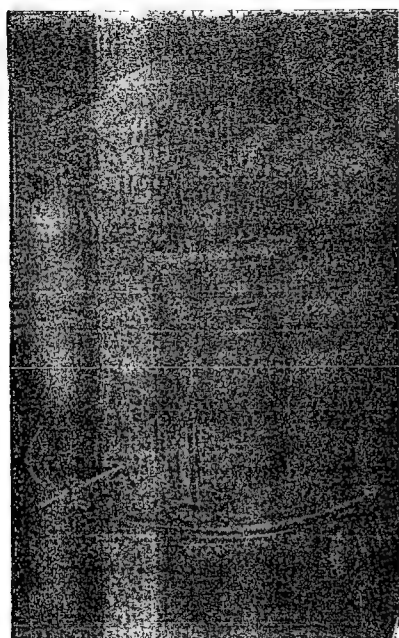
1.7 المواد المانعة للرغوي الخاملة *Inert antifoam agents*

ومن أمثلة هذه المواد مركبات السليكون المختلفة والتي تعد الوسيلة المثالية للسيطرة على الرغوي ، ولكن هومما تكون هذه المواد غالية جدا عند استخدامها في التخمرات الصناعية ذات النطاق الكبير . والتاثير الوحيد لهذه المركبات في التخمر يتضح من كونها تتحكم بتكوين الرغوة ، وانها لا تستهلك من قبل الاحياء المجهرية اضافة الى كونها غير سامة . فقد تضاف الى بيئة التخمر عند توليفها قبل التعقيم ،



الشكل (6.8)

رغوة فائضة من المعصر



الشكل (7.8)

السيطرة على الرغوة بإضافة
مضادات الرغافوي

الفصل التاسع

Sterilization

القيم

- 1 . مطبقة
- 2 . الطرق الطبيعية أو الفيزيائية للتعقيم
 - 1 . 2 . الحرارة
 - 2 . 2 . الترشيع
 - 3 . 2 . الأشعاع
- 3 . الطرق الكيميائية للتعقيم
 - 1 . 3 . الأحماض
 - 2 . 3 . القلويات
 - 3 . 3 . الكحوليات
 - 4 . 3 . الفينول ومركباته
 - 5 . 3 . اليود
 - 6 . 3 . الكلور ومركباته
 - 7 . 3 . المعادن الثقيلة ومركباتها
 - 8 . 3 . الصابون والمركبات الخافضة للتوتر السطحي
 - 9 . 3 . الفورمالدهيد
 - 10 . 3 . المضادات الحيوية
- 4 . اختبار المقم
- 5 . الطهارة
 - 1 . 5 . النظافة
 - 2 . 5 . درجة حرارة منتظمة
 - 3 . 5 . الرطوبة المنظمة

3

1. مقدمة Introduction

تتميز بالبيئة المعقمة خلوها من الكائنات الحية ، في حين ان التخمر المعقم يعني استخدام بيئة تحتوي على الكائن الحي المرغوب فقط الذي يقوم بالتخمر . وعلى الرغم من ان الحالة المعقمة هي حالة مطلقة فان طرق اختيار المعقم تكون نسبية . فقد تكون البيئة ماثرة ولكن التلوث يبقى غير مكتشف لعدم توفر الظروف الملائمة لنمو الاحياء الفرية الملوثة .

وقد تعاني بيئة التخمر الملوثة من عدة اشياء منها : -

- (1) تحول المواد الغذائية المتيسرة الى نواتج غير مرغوبة
 - (2) تغير الظروف البيئية ، بحيث ان الكائن الحي التخمرى يكون غير قادر على الانتاج او ان البيئة غير قادرة على الاحتفاظ بالنواتج المرغوب .
 - (3) قد تكون انزيمات تهضم الناتج المرغوب .
- ولذلك يعد التقييم من الامور الهمة الواجب مراعاتها في نجاح اي تخمر صناعي . ويجري التقييم بطرق عدة منها طبيعية ومنها كيميائية ، وتتوقف طريقة التقييم المستخدمة على نوع الناتج المرغوب ونوع الكائن الحي المجهري وطبيعة البيئة الغذائية ملاوة على عوامل عديدة اخرى .

Physical Methods of Sterilization

2. الطرق الطبيعية او الفيزيائية للتقييم

2.1 : الحرارة Heat

شيل ان نتكلم عن التقييم الحراري وطرقه المختلفة يحسن بنا ان نتعرف على

اصطلاحين سائدين في هذا المجال وهما درجة الحرارة المميتة Thermal Death Point والوقت الحراري المميت Thermal Death Time . فالمصطلح الاول يشير الى اقل درجة تهاك فيها خلايا معلق ميكروبي خلال عشر دقائق من تعرضها لهذه الدرجة . وهذا المصطلح بتعريفه السابق لاشك وانه مضلل الى حد ما وذلك لوجود لفظ (درجة Point) اذ من المعروف ان الخلايا الميكروبية (كالبكتريا) في مجموع معين لاشعوت او تهاك جميعا في وقت واحد وانما يحدث الموت على مدى فترة من الزمن . فالمصطلح الثاني لاشك وانه يشير الى اقل وقت يلزم لقتل الخلايا الميكروبية عند تعرضها لدرجة حرارة معينة .

ومن الملاحظ ان كلا من المصطلحين يبين ان هناك علاقة بين وقت التمرير
للحرارة ودرجة الحرارة اللازمة للقتل . ففي الحالة الاولى يثبت الوقت وتتنير
درجة الحرارة ، في حين في الحالة الثانية تثبت درجة الحرارة ويتغير وقت
التمرير .

وينبغي عند القيام بتحديد اي من التقديرين المذكورين مراعاة الظروف
البيئية الاخرى والتي تؤثر كبيرا في النتائج المتحصل عليها . ومن هذه الظروف
قيمة pH البيئة وتركيبها الكيميائي ، ونوع الكائن الحي المجهرى ، وتركيز
الملقح الميكروبي ، وممر الخلايا الميكروبية . اذ ان كلا من هذه العوامل قد يؤثر
في درجة مقاومة الخلايا الميكروبية للحرارة .

وتختلف الكائنات الحية المجهرية في مقاومتها للمعاملات الحرارية ، فقسم منها
يهلك بمعاملة حرارية على درجة حرارة متوسطة وقسم اخر يقاوم الحرارة العالية
وقسم اخر قد تهلك خلاياه النضرية ولكن سبوراته الداخلية تقاوم الحرارة العالية
ومن المعروف ان هناك معاملتين حراريتين رئيسيتين : -

الاولى : - رفع درجة حرارة الملقق الى درجة حرارة اقل من درجة حرارة الفليان
ولمدة معينة من الزمن . وهذه المعاملة اوجدها باستور Pasteur ويطلق عليها
البسترة Pasteurization ويمكن اجراؤها بعدة طرق تعتمد اساسا على درجة
الحرارة والمدة الزمنية المستغرقة .

اذ كلما ارتفعت درجة الحرارة المستخدمة في المعاملة انخفضت المدة الزمنية
اللازمة لها والعكس صحيح . وهناك نوعان من البسترة ، بسترة بطيئة تعتمد على
استخدام درجة حرارة منخفضة (62-65 م°) لمدة طويلة من الزمن (30 دقيقة)
وبسترة سريعة تعتمد على استخدام درجة حرارة مرتفعة لمدة قصيرة من الزمن .

ان هذه المعاملة الحرارية لا تؤثر بدرجة متساوية في انواع الاحياء المجهرية
كافة الا انها تقتل غالبية الخلايا النضرية لهذه الاحياء وبعض السبورات غير
المقاومة للحرارة في حين نجد ان بعض سبورات البكتيريا تقاوم هذه البسترة ولا تهلك
نتيجة المعاملة . لذلك فان اجراء عملية البسترة لفرض التعقيم يكون مقصورا على
بعض التخمرات التي تكون كائناتها الحية غير مقاومة لها او بالتعاون مع طريقة

تقيم أخرى كخفض الـ (pH) وخاصة اذا أدخلنا في الاعتبار التكاليف الناتجة عن التعقيم على اقتصاديات التخمير .

الثانية :- رفع درجة حرارة الملق الى درجة حرارة اعلى من درجة الفليان ولمد زمنية تتفاوت حسب طبيعة البيئة ونوع الكائن الحي المجهرى الموجود . وعادة تجري هذه المعاملة التعقيمية تحت ضغط مرتفع .

ان استخدام الحرارة الناتجة من جو متشبع ببخار الماء تحت ضغط مرتفع يعد احسن الطرق الممكن الاعتماد عليها في تعقيم المنتجات الغذائية كالحوم والخضروات المعلبة والتي تحمل اعدادا كبيرة من البكتريا المكونة للسبورات التي لا يمكنها تعقيمها عن طريق البسترة ، وكذلك في تعقيم البيشات الغذائية المضرة لتنمية الاحياء المجهرية في المختبر او لتعقيم البيشات الغذائية المستخدمة في التخميرات الصناعية .

والبخار تحت ضغط يوزر درجة من الحرارة اعلى من تلك التي توفرها عمليات الفليان تحت الضغط الجوي العادي ، كما ان لها القدرة على اجراء التسخين السريع وتغلغل الرطوبة داخل الخلايا مما تؤدي الى تغيير طبيعة البروتين الخلوي ، الامر الذي يؤدي الى موت الاحياء المجهرية .

والجهاز المستخدم في تعقيم بيشات المختبرات الميكروبيولوجية والبيشات المستخدمة في تحضير البادئات أو اللقاحات يطلق عليه المعقم البخاري (Autoclave) وهو عبارة عن وعاء من الصلب ذي جدار مزدوج له غطاء محكم القفل يوصل بمصدر لتوليد بخار الماء أو يولد بداخله البخار بالتسخين الكهربائي للماء بطرق أخرى ، ويشترط عند تشغيل المعقم البخاري التثبيت أولا من خروج الهواء واحلال بخار الماء محله ثم يفلق الجهاز وتزداد كمية البخار حتى يصل الضغط الداخلي الى الحد المطلوب عندها تكون درجة الحرارة قد ارتفعت الى الدرجة الملائمة للتعقيم . ومن الجدير بالذكر أن الخلايا والسبورات لا تموت من تأثير الضغط المرتفع ، بل من تأثير الحرارة الرطبة للبخار تحت ظروف الضغط المرتفع . وتختلف مدة المعاملة تبعا لطبيعة وتركيب البيئة ونوع وعدد الاحياء المجهرية الموجودة .

وهناك انواع عديدة من المقمات البخارية وباحجام مختلفة ولكنها لا تستخدم في تعقيم الكميات الكبيرة من البيئات الغذائية المستخدمة في الانتاج للتخميرات الصناعية ، وانما قد تستخدم في تعقيم البيئات الخاصة بتحضير الباديء أو اللقاح الى حد ما ، ولكن في حالة البادئات الكبيرة الحجم فانه يصعب تعقيمها في مثل هذه الاجهزة .

في حالة البيئات الكبيرة الحجم يضخ بخار حي تحت ضغط مرتفع جدا وذلك بامراره خلال فتحة الدخول الى المخمر ، أو في بعض الاحيان قد يمرر البخار في ملفات تسخين على الجدران الداخلية للمخمرات . ويضمن تعقيم الدقائق الصلبة في البيئة ، الرج والتحرك على شرط أن يكون ذلك خلال دورة التعقيم . ولذلك يجب ان تكون كافة اجزاء سائل التخمير والمعدات عند درجة حرارة التعقيم للمدة المعينة للمعاملة ، والا فقد تتكون بعض الجيوب الباردة Cold Pocket من السائل غير المعقم ، وهذه يمكن ملافاتها بالتصميم الجيد والدقيق لمعدات التخمير .

فاذا كان هناك حوض تخمير يحتوي على 160 هكتولتر من البيئة فقد يحتاج الى 4 ساعات تقريبا ليكمل دورته التعقيمية عندما يستخدم بخار تحت ضغط 7 كغم/سم² في ملفات التسخين . من هذه المدة ، يلزم 90 دقيقة لرفع درجة حرارة البيئة الى 120° م ، و30 دقيقة عند درجة حرارة التعقيم ، و 120° دقيقة اضافية للسماح بتبريد البيئة بصورة جيدة قبل تلقيحها .

ان التعقيم باستخدام بخار عالي الضغط يتطلب وجود مرجل بخاري (بويلر Boiler) يجهز بخارا عند ضغط 7 كغم/سم² ، وملفات تسخين مصممة للعمل تحت نفس الضغط ومخمر مشيد للعمل عند ضغط 1.05 كغم/سم² . وينبغي ان يسمح التصميم بخروج الهواء التام من المعدات وذلك لتقليل الجيوب الباردة التي تميل للتكوين في قاع المخمرات الطويلة .

والضغط داخل المخمر هو مجموع الضغوط الجزئية لاحتواء من البخار والهواء . واي هواء يتواجد سوف يسهم بالتالي في الضغط الكلي ويقلل من الضغط الجزئي للبخار وينتج عنه الفشل في الوصول الى درجة حرارة التعقيم .

وعندما يضغط البخار الحي **Live steam** الى داخل بيئة التخمير الباردة ، فان الحرارة تنتقل وقد يحدث تكثيف يؤدي الى تخفيف البيئة الى حد يصل الى 20% وعلى عكس التعقيم بالبخار الحي تحت ضغط مرتفع ، فان التعقيم باستخدام المعقم البخاري للدوائر المحتوية على كميات قليلة من البيئة والمقتولة بسدادات قطنية يسبب تركيزا للبيئة بمقدار يصل الى 3% ويحدث هذا التركيز بعد انتهاء التعقيم واثناء تبريد المعقم البخاري ، اذ ان تبريد البيئة يحدث بالدرجة الكبرى بواسطة بخار الماء وقد يحدث غليان اذا فقدت البيئة الماء بسرعة كبيرة . ويستمر فقد الماء لغاية الوصول الى الضغط الجوي العادي . وعموما فان تركيز محتويات البيئة الممقمة يعتمد بالدرجة الرئيسة على الطريقة المتبعة في التعقيم ويجب عمل بعض الحسومات عند تغير نطاق العمليات الصناعية .

وهناك طريقة اخرى للتعقيم بدلا من استخدام المعقم البخاري او البخار الحي ، حيث يمكن تعقيم البكتريا الغذائية الى درجة حرارة 80—100° م على فترات متعاقبة خلال ثلاثة ايام متتالية ويطلق على هذه الطريقة **Tyndalization** . وعادة تسخن البيئة الى درجة الغليان لمدة 30 دقيقة في اليوم الاول ولمدة 20 دقيقة في اليوم الثاني ولمدة 10 دقائق في اليوم الثالث . والفكرة في هذا الاجراء انه بعد هلاك الخلايا الخضرية بعملية التلي في اليوم الاول فان ما يتبقى من سبورات تنبت على درجة حرارة 37° م وتكون خلايا خضرية يمكن قتلها في اليوم الثاني، والسبورات القليلة التي تبقى بدون انبات بعد عملية التلي في اليوم الثاني يمكن ان تنبت ، اذ يمكن القضاء على الخلايا الخضرية الناتجة منها بعملية التلي في اليوم الثالث . وتتبع هذه الطريقة لتعقيم البكتريا المحتوية على سكريات يخشى من تحليل باستعمال درجة حرارة المعقم البخاري او البخار الحي تحت ضغط مرتفع ، الا ان تقرير درجة تحلل السكريات عقب عملية التعقيم بالطريقتين السابقتين قد لا تبرر استعمال طريقة التعقيم المتقطع علاوة على ان الفترة بين عملية الغليان وحدوث الانبات تكون فترة قصيرة ومحدودة جدا ، الا ان عملية التسخين في حد ذاتها قد تشجع انبات السبورات .

• وقد تكون عملية التعقيم المتقطع مفيدة في المناطق التي يكون فيها التعقيم بواسطة بخار تحت ضغط مرتفع غير ممكنة بسبب النقص في المعدات .

ويمكن استخدام الحرارة الجافة (الهواء الساخن) Dry Heat في اعمال التعقيم وبمقارنة الحرارة الرطبة بالحرارة الجافة في قتل الاحياء المجهرية نجد ان السبورات وخاصة البكتيرية منها والتي تعد من أكثر الاطوار البكتيرية مقاومة للحرارة ، تهلك على درجات منخفضة من الحرارة خلال فترات قصيرة من الزمن اذا استخدمت الحرارة الرطبة عما لو استخدمت الحرارة الجافة . ففي حين تقضي الحرارة الرطبة على الخلايا نتيجة لتخثر Coagulation البروتين الغلوي ، نجد ان الحرارة الجافة تقتل الخلايا عن طريق التجفيف Dehydration ، كما انه من المعروف ان الحرارة الجافة تقضي على الاحياء المجهرية نتيجة لأكسدة محتوياتها . وتستخدم طرق الحرارة الجافة في التعقيم عندما لا يراود وصول البخار المضغوط الى المواد المراد تعقيمها ، ومن امثلة ذلك بعض المواد والاجهزة الزجاجية والتوصيلات الخاصة بالمخمرات وبعض الزيوت والمساحيق والمواد المائلة كما تستخدم الحرارة الجافة في تعقيم الهواء حيث تستخدم درجة حرارة 330° م لعدة ثوان . وفي مثل هذه الحالات من الضروري استخدام مسجلات حرارية دقيقة وكذلك اجهزة تحكم دقيقة للحفاظ على درجة الحرارة بين 5-10° م أعلى من الدرجة الحرارية المحسوبة لعملية التعقيم .

2 . الترشيح Filtration

هناك نوعان من الترشيح يستعملان في تعقيم السوائل والغازات وكل منهما يستخدم أساسا مختلفا . والترشيح الحقيقي يتم بمرور السائل أو الهواء خلال غشاء ذي حجم مسامي فعال اصغر من الاحياء المراد ازالتها ، وتتضمن هذه المرشحات شموع خزفية غير صقيلة او ملساء وزجاجا متلبدا sintered glass والطريقة الثانية لا تعتمد على حجم المسامات المتناهية الصغر ولكن على الفرصة العشوائية لارتطام الكائن الحي ومن ثم الالتصاق على الليف الصلب ، ومثل هذه المرشحات تحتوي على مواد ليفية مضغوطة (مثل slag-wool ، والصوف القطنسي cotton-wool أو الصوف الزجاجي glass-wool) وهذه مستخدمة بالدرجة لرئيسة في تعقيم الهواء .

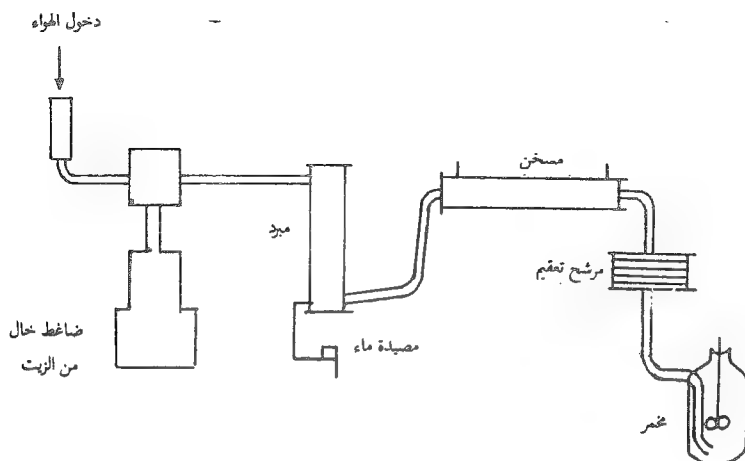
وينبغي تأمين ازالة الرطوبة أو الزيت قبل الترشيح اذ ان الالياف تميل لان

تصبح مشبعة وبالتالي فإن الرطوبة ستسمح للكائنات الحية أن تنتشر خلال المرشح .
وهناك ثلاثة أسباب معروفة لتلوث السائل في المرشحات الهوائية هي :-

1. التصميم غير الصحيح لنظام الهواء المضغوط .
2. الانخفاض الزائد في الضغط المصحوب بانخفاض درجة الحرارة في خط الهواء المجهز للمرشح .
3. التصميم الهزيل أو المحافظة غير الصحيحة لضغط الهواء .

ان المشكلة الاساسية في تصميم مرشحات الهواء المضغوط تظهر عندما يضغط تحادريا هواء رطوبته النسبية 50% عند درجة حرارة 72° م (45° ف) إلى ضغط 14 كغم / سم² . وينتج عنه تكثيف للماء .

وهناك حلان ممكنان : يمكن أن يمل الضغط ادياباتيا (أي بدون فقد الحرارة) معطيا ارتفاعا لاحقا في درجة حرارة الهواء المضغوط ، أو أن الاخير قد يبرد لازالة الماء قبل تسخينه ثانية الى درجة حرارة تزيد على درجة نداوته .
والتصميم الملائم للامداد بالهواء المعقم مبين في الشكل (1.9) التالي :



الشكل (1.9) . تصميم نظام الهواء المضغوط لتجهيز هواء معقم

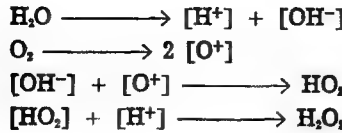
3.2 - الاشعاع Radiation

من المعروف أن الاشعة الالكترومغناطيسية مثل الاشعة فوق البنفسجية في مدى طول موجي 240-280 نانومتر والاشعة السينية X-rays واشعة جاما gamma radiation تحدث تأثيرا مميتا للاحياء المجهرية .

ان امتصاص الطاقة الاشعاعية بواسطة الخلايا ينتج عنه أما تأثير مميت للخلايا طبقا لنظام لوغاريتمي أو الى حدوث طفرات في الخلايا التي قد تنجو من التأثير المميت وهناك احتمالان لما يمكن ان يحدث للخلايا :

الاول : ان الاشعاعات تحدث تأثيرا مباغرا direct hit لمناطق حساسة من الخلايا تعرف بالهدف الحساس sensitive target وان الطاقة الاشعاعية تمتص في هذه المناطق وبالتالي يتغير تركيبها الجزيئي ، وتعتبر المحتويات النووية لهذه المناطق اكثرها تأثيرا ، اذا ما علمنا ان المحتويات النووية ذات قدرة عالية لامتصاص الاشعة فوق البنفسجية .

الثاني : ان الاشعاعات تحدث تأينا لما تحتويه الخلايا من الماء ومن جزيئات الاوكسجين التي تتواجد في منطقة مرور الاشعة في الغلية وان ما ينتج من ايونات يتفاعل مع مكونات الغلية كما يلي :-



والتفسير الأكثر قبولا هو أن وجود ايونات الهيدروبيروكسيل Hydroperoxyl [HO_2] والهيدروكسيل [OH^-] الحرة بالخلايا عقب تمريرها للاشعاع هو الذي يحدث التأثير السام والمميت للخلايا عن طريق اكسدها لجزيئات الساييتولازم والاجسام النووية بالغلية .

ومن الناحية الفسيولوجية لخلايا الاحياء المجهرية يمكن تحديد منطقتين حساستين لفعل الاشعاعات :

الاولى - هي الانزيمات الموجودة في الساييتولازم الخلوي والمسؤولة عن التفاعلات الايضية المختلفة .

الثانية - هي الاجسام النووية التي تتحكم في تكوين السايوتوبلازم بانزيماته المختلفة ، وتحدد انتقال القدرات الانزيمية الى الاجيال المتعاقبة .
 • فيما يختص بالمنطقة الاولى فيوجد من الادلة ما يثبت قدرة الاشعاعات على تثبيط الانزيمات الميكروبية المعزولة من الخلايا وأن عملية التثبيط تحدث نتيجة لأكسدة البروتينات الانزيمية وبخاصة أكسدة محتوياتها من مجاميع السلفاهيدريل
 (SH) = sulfhydryl groups الى مجاميع ثنائي الكبريتيد (S-S) وفيما يختص بالمنطقة الثانية فان ما يحدث فيها من تغيرات نتيجة الاشعاعات يشمل الطريقتين التأثير المباشر والتفاعلات التأكسدية كما في حالة الانزيمات السايوتوبلازمية .

ويستفاد عمليا من تأثير الاشعاعات الضارة بالاحياء المجهرية في تمقيم الأماكن كالمستشفيات وغرف العمليات الجراحية وغرف تعبئة الادوية والمقاييس في اوعية معقمة وفي غرف تحضير المزارع النقية ولتطهير السطوح الملوثة وبمض المعدات والبيئات المستخدمة في التخمرات الصناعية .

ويتناسب التأثير المميت للاشعاع مع كمية الجرعة الاشعاعية ولكن قدرة الاشعاع على النفاذ خلال الهدف تتناسب عكسيا مع كثافة الوسط ، وبالتالي فان كفاءة التعميم تقل بسرعة كلما زاد المر الذي ينفذ خلاله الاشعاع .

ولايمتبر استعمال الاشعة السينية X-rays (اشعة رونتجين Roentgen rays) لغراض التعميم من الامور العملية للأسباب التالية : -

- (1) ان انتاجها بالكميات الكبيرة اللازمة يمد من الامور الباهظة التكاليف .
- (2) انه من الصعب استعمالها بالكفاءة اللازمة حيث ان اشعاعها تنتشر في جميع الاتجاهات المحيطة بمصدرها .

الا انه لايمكن استخدامها في انتاج طفرات من الاحياء المجهرية المختلفة لغراض الدراسة . اما اشعة جاما فيمكن الحصول عليها من اشعاعات النظائر المشعة Radioactive isotopes مثل الكوبلت 60 وهي تشبه الاشعة السينية في تأثيرها المميت للاحياء المجهرية الا انها ذات موجات اقصر طولاً ، ونظراً لقدرتها

العالية على اختراق الاشعاع يبدو ان استعمالها قد يكون كثير الفائدة للتعقيم الداخلي
للأشعاع السميكة .

ويمكن أيضا استعمال الاشعاعات الالكترونية Electron Beam Radiation والتي تعرف باسم أشعة المهبط Cathode Rays في أغراض التعقيم لما لها من
فعل مبيد للأحياء المجهرية عندما تكون ذات كثافة مرتفعة .

3 . الطرق الكيميائية للتعقيم Chemical Methods of Sterilization

استخدمت مواد كيميائية عديدة في إبادة وتعقيم الأحياء المجهرية الملوثة
للبيئات الغذائية أو لمعدات التخمر . ان درجة تأثير خلايا الأحياء المجهرية بالمادة
الكيميائية السامة تتوقف على عدة عوامل أساسية منها : درجة تركيز المادة
الكيميائية ، ونوع الأحياء المجهرية وتعدادها ، وطول فترة تعرض الأحياء المجهرية
للمادة الكيميائية . وهناك عوامل ثانوية يمكنها أيضا ان تؤثر في درجة مقاومة
الخلايا للفعل السام للمواد الكيميائية أهمها : رقم ال pH ودرجة الحرارة
ووجود المواد العضوية في البيئة .

نحن نعرف ان الخلية الحية هي تلك القادرة على التكاثر ، والخلية الميكروبية
التي يمكنها ان تنجو من التأثير السام للمادة الكيميائية هي اذن تلك التي تكون
قادرة على التكاثر في وجود المادة . وأحياء لا تتكاثر الخلايا في وجود المادة
الكيميائية ولكنها قد تواصل نموها وانقسامها اذا ما أبعدت عنها . والمواد
الكيميائية التي تمنع نمو وتكاثر البكتريا مثلا وخاصة عندما تكون ملاصقة لها
تعرف باسم المواد الموقفة للنمو Bacteriostatic ، أما المواد الكيميائية التي
يمكنها احداث تأثير ضار ودائم للخلايا البكتيرية بمعنى انها توقف انقسام الخلايا
بصفة دائمة تعرف باسم المواد المبيدة للبكتريا Bactericide والمواد المبيدة
لفطريات يطلق عليها Fungicide .

ان التأثير المبيد والموقف للنمو بصفة مؤقتة يعتمد كثيرا على تركيز المادة
الكيميائية ، بمعنى ان مادة واحدة قد يكون تأثيرها موقفا فقط عندما تكون
بتركيزات منخفضة في حين انها تحدث تأثيرا مبيدا لنفس الكائن الحي المجهرية عندما
يزيد تركيزها عن حد معين . اذن لكل مادة كيميائية نطاق من التراكيز يتسرون

بين التركيزين غير الضار (عندما تكون على تراكيز منخفضة جدا) والتركيز المبيد او المميت ويقع بينهما التركيز الموقف للنمو .

ومن المعروف أن النشاط الخلوي يعتمد اعتمادا كليا على التفاعلات الحيوية المرتبطة التي تتم عن طريق الانزيمات الخلوية ، فإذا توقف أحد هذه التفاعلات يتوقف النمو . والمادة الكيميائية قد تكون على درجة عالية من التخصص بحيث يمكنها إيقاف خطوة واحدة من خطوات أحد التفاعلات الحيوية بالغلبة أو أن تكون أقل تخصصا عندما تتمكن من احباط عديد من التفاعلات في وقت واحد . وتقدر كفاءة المادة للسامة بصفاتها الكيميائية ، وبقدرتها على التفاعل مع المجاميع الفعالة للمكونات البروتينية . ومن المواد الكيميائية المستخدمة في التعقيم الاتي :-

1.3 . الاحماض Acids :-

تستخدم الاحماض في خفض رقم pH البيئة وبالتالي تهيشة ظروف غير مناسبة لنمو الكائنات الحية الملوثة للبيئة في حين تكون مناسبة لنمو كائن التخمر المجهرى . وخفض pH البيئة يستخدم في أحيان كثيرة كوسيلة لتقليص درجة الحرارة والمدة الزمنية للمعاملة الحرارية في بعض التخمرات وهذا يقلل من تكاليف البخر المستخدم في التعقيم وبالتالي من تكاليف التخمر . ومن الاحماض المستخدمة حامض الكبريتيك وحامض الهيدروكلوريك وحامض الكبريتوز وبعض الاحماض العضوية كالستريك والفيوماريك وغيرها .

2.3 . القلويات Alkali :-

وهذه تستخدم في تعديل pH البيئة الى الرقم المناسب للتخمر وأيضا في تنظيف الاجهزة والمعدات المستخدمة . ويعد هيدروكسيد الصوديوم وهيدروكسيد البوتاسيوم من أكثر القلويات المستخدمة في هذا المجال .

3.3 . الكحول Alcohols :-

لا يمكن الاعتماد على الكحول الايثيلي في عمليات التعقيم اذ ان تراكيزه المؤثرة في الخلايا الضرية لا تؤثر في السبورات ، كما ان الكحول الميثيلي يعد أقل كفاءة من الكحول الايثيلي في قدرته التعقيمية ، الا ان كلا من كحول البروبيلي

والبيوتيلي يمدان أقوى كثيرا في قدرتهما التعقيمية من كحول الايثيلي . وتؤدي الكحولات فعلها السام نتيجة لتلف البروتين الخلوي **coagulation** وكذلك لتأثيرها التجفيفي للخلايا **dehydrating effect** .

4.3 . الفينول ومركباته :-

ويستخدم للتعقيم الخارجي لانه سام للإنسان مثل الاجهزة والارضيات . ويكون اكثر تأثيرا في الخلايا الغضرية بينما تقاوم السبورات البكتيرية والفيروسات تأثيره بدرجة ملحوظة . ويتم الفعل السام على الخلايا الغضرية عن طريق تغيير طبيعة (دنثرة) **denaturation** البروتين الخلوي وخاصة الفشاء السيتوبلازمي .

5.3 . اليود :-

ويستخدم المحلول المائي أو الكحول مع يوديد البوتاسيوم في العلاجات السطحية وله تأثير مبيد غير متخصص على العديد من الاحياء المجهرية . ويؤدي اليود فعله السام باتحاده وارتباطه غير التخصصي بالبروتين الخلوي .

6.3 . الكلور ومركباته :-

الكلور الغازي أو مركبات الكلور التي ينطلق منها الكلور في صور غار يعتبر من أهم المطهرات الكيميائية ، ويستعمل الكلور المضغوط في تعقيم المياه المختلفة والانابيب والتوصيلات لمضخات أجهزة التخمر . ويرجع فعله المبيد أو المميت للاحياء المجهرية الى تفاعله السريع حتى ولو كان بتخفيف عال مع المركبات العضوية . وهناك مركبات من الكلور يمكن استخدامها بطرق اكثر سهولة من الكلور الغازي نفسه مثل الهيبوكلوريتات **Hypochlorites** كهيبوكلوريت الكالسيوم والكلورامينات **Chloramines** كمنوكلورامين .

7.3 . المعادن الثقيلة ومركباتها :-

معظم المعادن الثقيلة أو مركباتها تكون ذات تأثير سام في الاحياء المجهرية ، واكثر هذه المعادن تأثيرا في هذا المجال الزئبق ، والفضة والنحاس . ويرجع فعل المعادن في ايقاف النمو الى ارتباط هذه الايونات بالبروتينات الخلوية .

وتستخدم المعادن في أغراض التعقيم والتطهير المختلفة منها معاملة مصادر المياه . ومن مركبات المعادن الثقيلة المستخدمة في التعقيم والتطهير هي مركبات الزئبق غير العضوية مثل كلوريد الزئبتيك وكلوريد الزئبقوز وهناك مطهرات زئبقية عضوية مثل ميركروكروم **mercurochrome** ومن مركبات الفضة نترات ولاكتات الفضة وبيكرات الفضة **silver picrate** ومن مركبات النحاس كبريتات النحاس .

وملاح المعادن الثقيلة قد تعمل على قتل الخلايا الميكروبية نتيجة لارتباطها مع البروتين الخلوي علاوة على قدرتها الترسيبية اذا تواجدت في تراكيزات مرتفعة نسبيا .

8.3 . الصابون والمركبات الخافضة للتوتر السطحي :-

يطلق اسم المنظفات **Detergents** عادة على المواد التي تقلل من التوتر السطحي للسوائل او المواد المبللة التي منها الصابون بمختلف انواعه ، وهذه تعد مطهرات متوسطة القوة وذات قدرة اختيارية في التأثير في الاحياء المجهرية . والاهمية القصوى في استعمال الصابون تتمثل في الازالة الميكانيكية للاحياء المجهرية عن السطوح التي تفصل بها مثل الايدي والادوات والمعدات والاجهزة وغيرها ، كما وانها تقلل من التوتر السطحي للماء وتجعله أقدر على التغلغل في الاشياء المفسولة علاوة على قدرة الصابون على امتصاص وازالة الزيوت الملوثة الاخرى .

9.3 . الفورمالدهيد **Formaldehyde**

الفورمالدهيد عبارة عن غاز يكون ثابتا فقط عندما يتواجد في تراكيزات مرتفعة او في درجات الحرارة المرتفعة .

واهم صورة لهذا الغاز هي البارافورمالدهيد **Paraformaldehyde** وهي مادة صلبة عديمة اللون ينطلق منها غاز الفورمالدهيد عندما تسخن . وغاز الفورمالدهيد يمكن الحصول عليه في صورة محلول مائي يعرف باسم فورمالين والذي يحتوي على 37 — 40 % فورمالدهيد .

يعد الفورمالين والبارافورمالدهيد المصدرين الرئيسيين لغاز الفورمالدهيد

اللازم لتعفير الترف والابنية في الاغراض التعقيم او التطهيرية المختلفة - فاذا رفعت درجة حرارة اي من المركبين في مكان مفلق لفترة كافية ينطلق غاز الفورمايد السدي يظهر هذا المكان .

وغاز الفورمالدهيد يؤثر في الخلايا بدرجة اكبر من السبورات .

10.3 . المضادات الحيوية Antibiotics

المضادات الحيوية عبارة عن مواد كيميائية عضوية تنتج عن التفاعلات الايضية لبعض الاحياء المجهرية التي تكون مبيدة او موقفة لنمو ونشاط غيرها من الكائنات الحية المجهرية .

وقد استخدمت المضادات الحيوية ولا تزال في علاج كثير من الحالات المرضية التي تصيب الانسان والحيوان والنبات علاوة على استخدامها كوسيلة من وسائل التعقيم او التطهير للبيئات المستخدمة في التخمرات الصناعية .

4 . اختبار العقم Sterility Testing

اختبارات العقم على هيئة صغيرة من البيئة قد تظهر ان الكمية الكلية ليست ملوثة ، وعلى الرغم من فائدة هذه الاختبارات الا انها لا تستطيع اثبات عقم البيئة . وعلى سبيل المثال ، قد يكتشف تلوث في اختبار عقم على هيئة قدرها 500 مل مأخوذة من بيئة معقمة حجمها الكلي 200 هكتولتر ، فهذا يعني ان المحلول يجب ان يحتوي في الاقل على كائن حي مجهر واحد اذا كان ملوثا . وفي الحقيقة ، قد يكون التلوث اكبر من ذلك بكثير ، اذ تحتاج البيئة الكلية ان تحتوي في الاقل على 40,000 كائن حي مجهر موزعة بانتظام وذلك لضمان الكشف عن التلوث في عينة قدرها 500 مل . وبصورة مماثلة ، فان تفسير اختبارات العقم تعتمد على الطريقة المستخدمة ، وهذه بدورها يجب ان تستنبط او تبتكر لدعم نمو الملوثة المتوقعة في تخمر معين . وعلى سبيل المثال ، ينبغي ان تصمم اختبارات العقم في التخمرات الهوائية الشديدة لكشف عن الملوثة الهوائية وليس اللاهوائية .

ان الكائنات الحية الصناعية البطيئة النمو (مثل الاكيتونومايستيات والفطريات) وخصوصا عندما تتلوث او التي في مراحل نموها المبكرة من المتوقع ان تمانى كثيرا من وجود الملوثة . ومن اكثر الكائنات الحية الاعتيادية الملوثة في بيئات

الاكتينوماسيتيس المنتج للستربتومايسين وفي بيئات الفطر المنتج للبنسلين هي البكتريا السريعة النمو المكونة للسبورات مثل *Bacillus subtilis* . ويمكن كشف هذا الكائن الحي بتخطيط مقدار بسيط من البيئة السائلة على سطح أجار ممقعة (مستخلص لحم 0.3 % ، بيتون 0.5 % ، آجار 1.5 % و pH 6.8) وحضنها على 27 م لمدة 3 أيام أو بتلقيح 10 مل من بيئة سائلة ممقعة (مستخلص خميرة 0.5 % ، بيتون 1 % Na_2HPO_4 ، 0.75 % ، جلوكوز 1 % و Lab Lemco 0.5 % ، pH 7.0) بواسطة ميلتز واحد من سائل التخمر المشكوك بتلوثه قبل التحضين بنفس الطريقة .

5 . الطهارة Asepsis

ان اساس الطهارة يستخدم تغيرا مباشرا لظروف بيئية غير مؤاتية لمنع اوتأخير نمو الكائنات الحية الملوثة ، بدلا من قتلها كما في التعقيم . وهناك درجات من التطهير في جميع مظاهر الحياة ، وستتناول أهمها بايجاز :-

1.5 . النظافة Cleanliness

ان المواد الملائمة لنمو الاحياء المجهرية غير المرغوبة كما هو الحال مع منتجات الالبان قد تستبعد في بعض الاحيان بالنظافة . فالحليب قد يدعم نمو عدد من الاحياء المجهرية الملوثة . وبالتالي فان خطوط انتاييب منتجات الالبان تكون مصممة للسماح بالتنظيف التام ، ومبنية من مواد ذات سطح صقيل جدا وخالية من التشققات والتصدعات .

والصحة الشخصية هي اتجاه اخر مهم للنظافة ، وخصوصا في مصانع الاغذية وفي الاماكن الممقعة حيث يكون العاملون المصدر الرئيس للتلوث . وهناك عدد من القواعد العامة التي تحكم النظافة الشخصية كوسائل تخدم في التطهير :

1 . الاحتياط في نظافة الملابس من الرأس الى القدم ويفضل ارتداء جزم طويلة الساق Wellington boots واردية سروالية فضفاضة Overall وغطاء للشمس .

(2) فحص يدي روتيني لضمان الخلو من الاصابات المدية او الناقلة للمدوى .
(3) الاحتياط في غسل المعدات وتنفيذ قوانين استخداماتها .

2.5 . درجة حرارة منتظمة Controlled Temperature

يمكن خفض معدل نمو الاحياء المجهرية الى حد كبير بالتبريد الى 0°C . وان نمو اغلب الاحياء يكون مهملًا عند حوالي صفر مئوي الا انه من المحتمل ان تبقى بعض انزيماتها نشطة حتى تصل درجة الحرارة الى -80°C . وتفشل درجة الحرارة المنخفضة لوحدها في قتل انواع عديدة من الاحياء المجهرية ، وعادة تبقى السبورات قابلة للحياة او النمو حتى بعد التبريد الى -80°C . فالتبريد (عند 0°C) او التجميد (عند -20°C) قد يكون بالتالي منطويًا على المخاطرة اذا سمح لدرجة حرارة الناتج ان ترتفع مؤقتًا خلال التخزين ، بحيث ان الكائنات الحية الطبيعية تتكاثر ولكنها تبقى غير مكتشفة .

3.5 . الرطوبة المنظمة Controlled Humidity

يعد الماء أو بخار الماء أساسيا في استمرار نمو الاحياء المجهرية . فالتحكم بالرطوبة لمنع التكثيف يستخدم خلال التخزين الصناعي للفواكه ، ولذلك يجب ان يكون دوران الهواء دقيقًا ولكن ليس مفرطًا مما يؤدي الى تجفيف الناتج ويجب أن تبقى درجة الحرارة منتظمة .

الفصل العاشر

التخميرات المزدوجة أو المتعددة

Daul or Multiple Fermentations

• التخميرات المزدوجة أو المتعددة هي تلك التخميرات التي يستخدم فيها أكثر من كائن حي مجهري واحد • إذ تلتحق الكائنات الحية في وقت واحد في بيئة النمو ، أو أن كائنا حيا واحدا قد ينمي أولا في البيئة ، يليه تلقيح ونمو الكائن الحي المجهري الثاني • أو كبديل عن ذلك انه بعد حدوث النمو في البيئات الاصلية ، يمكن الجمع بين تخميرين منفصلين معا لاكمال النشاط الاضافي •

والفكرة الاساسية في هذه التخميرات هي ان اثنين او اكثر من الكائنات الحية المجهرية ينجزان شيئا ما لا يمكن ان ينجزه كائن حي مجهري بمفرده •

وهناك استخدامات عديدة ومهمة للتخميرات المزدوجة أو المتعددة منها :-

1 . استخدام كائن حي مجهري واحد لانتاج ناتج التخمير الذي يتحول بعد ذلك او يتغير بواسطة كائن حي مجهري آخر او عدة احياء مجهرية الى نواتج تخميرية مختلفة لها قيمة اقتصادية اكبر • ومثال على ذلك ، انتاج الخل ، اذ تنتج الخميرة الكحول الايثيلي أولا ومن ثم تقوم انواع بكتريا *Acetobacter* بتحويل الكحول الى خل •

2 . استخدام كائن حي مجهري واحد لتغيير او تهيئة البيئة لتصبح اكثر ملائمة لنمو كائن حي مجهري آخر • وعلى سبيل المثال ، قد يجهز الكائن الحي المجهري نشاطا لانزيم الاميليز او البروتيز من أجل الكائن الحي المجهري الثاني الذي يفترق الى هذه النشاطات •

3 . استخدام كائن حي مجهري ما لازالة النواتج الثانوية الايضية السامة لكائن حي مجهري آخر ، أو كائن حي مجهري لتجهيز عوامل نمو لكائن آخر ، أو كائن حي مجهري لازالة الاوكسجين أو لخفض جهد الاكسدة والاختزال لكائن حي مجهري لا هوائي ، أو كائن حي مجهري ليبقي مدى الـ pH حرجا لكائن آخر •

4 . استخدام كائن حي مجهري لاعطاء ناتج ايزمي مثل حامض اللاكتيك ، الذي يكون مفيدا لنمو الكائن الحي المجهري الثاني كالخميرة ، وبتنفس الوقت يساعد في السيطرة على التلوث •

ان نمو اثنين من الكائنات الحية المجهرية التخميرية في وقت واحد وفي بيئة واحدة يعرض مشكلة في البيئة العامة الميكروبية • اذ ينبغي ان يكافح كل كائن حي

مع النشاطات الفسيولوجية والنمو والاستفادة من المواد الغذائية للكائن الاخر ومن المحتمل ان تكون معدلات نموها مختلفة بحيث ان احد الكائنين يتفوق في نموه على الاخر . لذلك يقتضي الامر اجراء دراسات مستفيضة عن البيئات الغذائية وظروف التخمر الاخرى وذلك لموازنة نمو كائنين او اكثر . وتصبح هذه المشكلة بسيطة جدا أو كبيرة جدا اذا تواجدت صورة معينة من التعايش أو التكافل *symbiosis* بين الكائنين ، بحيث يعتمد احدهما على الاخر نموها . ومثال التخمر المزدوج الجاري في وقت واحد الذي لا يتضمن المعيشة التكافلية قد يكون ذلك الذي فيه كائن حي سجهري يستخدم الجلوكوز لانتاج حامض α -كيتوجلوتاريك في حين الكائن المجهري الثاني يستخدم الجلوكوز ايضا للنمو ولادخال مجموعة أمين الى حامض α -كيتوجلوتاريك ليمطي حامض الجلوتاميك .

ومن جهة النظر التخمرية يسهل التحكم بالتخميرات المزدوجة او المتعددة التي فيها كائن حي واحد يتبعه تلقيح ونمو الكائن الحي الثاني . ويعد هذا صحيحا وخاصة اذا كان بالامكان قتل الكائن الحي الاول بالحرارة او بطريقة اخرى من طرق التلقيح قبل التلقيح بالكائن الحي الثاني .

ان الانجازات الاساسية لهذه الطريقة تكون مشابهة لتلك التخمرات المزدوجة ذات التلقيح الاتي . وكمثال على هذه الطريقة هو النمو الابتدائي للكائن الحسي المنتج لنشاط محلل للبروتين أو النشا في البيئة لتهيئته لنمو لاحق لكائن حي لا يمتلك هذه النشاطات . وحاليا وجدت عملية جمع تخمرات منفصلة لاعطاء نشاط تخمري اضافي طريقها في التطبيق الصناعي وفي هذه الطريقة التخمرية ، فان تخمرا ما يعطي عادة ناتجا ينبغي ان يتغير انزيميا الى ناتج آخر ذي قيمة اقتصادية أكبر ، ويوفر التخمر الاخر الاحياء المجهرية المحتوية على الانزيمات الوثيقة الصلة في اجراء هذا التغير الذي تتوسطه الانزيمات . ومثال على ذلك هو التخمر المزدوج المستخدم في انتاج I_2 - لايسين . اذ تنتج بكتريا *Escherichia coli* في احد التخمرات حامض diaminopimelic — ϵ ، α وفي تخمر آخر تنمو بكتريا *Aerobacter aerogenes* المحتوية على انزيم diaminopimelic acid decarboxylase ويتم جمع هذين التخميرين بحيث

يمكن لـ *diaminopimelic acid decarboxylase* البكتيريا

Aerobacter aerogenes أن يزيل مجموعة كربوكسيل من حامض

Escherichia coli - ϵ , ∞ الناتج من تخمر بكتريا

لاستام L - لايسين . وكذلك يضاف التولوين عند وقت جمع التخمرين وذلك

من أجل أن يتحرر إنزيم *diaminopimelic acid decarboxylase*

من خلايا بكتريا *Aerobacter aerogenes* بحيث تقتل خلايا كلا النوعان

ولا يقومان بعد ذلك بأي استفادة ايضية لمكونات البيئة أو نواتج التخمر .

ان التخمرات المزدوجة أو المتعددة كما سبق وصفها اعلاه تعرض امكانيات

خادعة للاستخدام الصناعي للأحياء المجهرية . وعلى اية حال فان الحاجة لا تزال

قائمة لمزيد من الدراسات في هذا المجال ، وخصوصا في تلك الحالات التي تنمو

فيها الإحياء المجهرية وبوقت واحد في نفس البيئة الفدائية . لذلك فان فهم أكبر

للبيئة العامة الميكروبية قد يسهم على نحو كبير في الجهد الصناعي لمختلف هذه

التخمرات .

الفصل الحادي عشر

التخميرات المتقطعة والمستمرة

Batch and Continuous Fermentations

1. مقدمة
2. الطرق المختلفة للتخمير المستمر
3. التحكم بالتخمير المستمر
4. الاعتبارات المهمة في التخمير المستمر
5. أشهر أنواع التخميرات المستمرة



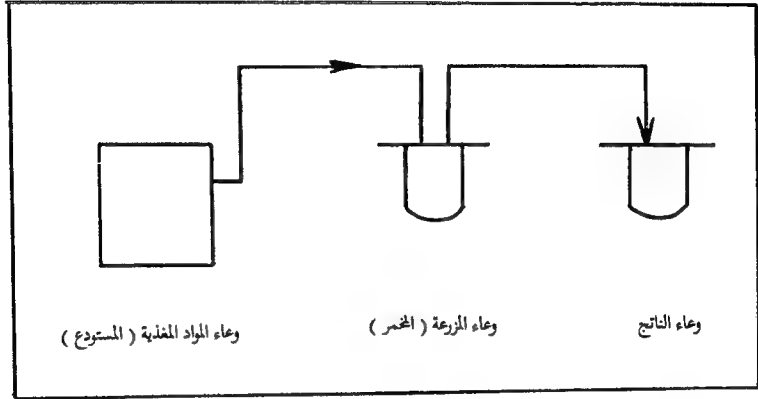
1 . مقدمة Introduction

ان نمو الكائن الحي المجهرى خلال التخمر المتقطع أو تخمر الوجبة الواحدة batch fermentation يطابق صفات منحني النمو السابق شرحة (الفصل الثاني) • اذ يؤدي طور الركود lag phase او فترة التطبع على البيئة الى الطور اللوغاريتمي ، الذي فيه ينقسم الكائن الحي أسيا • وعذا بدوره ينتهي بتناقص متزايد في معدل النمو نتيجة للمعز في واحد أو اكثر من المواد الغذائية الاساسية لغاية الوصول الى طور النمو الثابت عندما تبقى كمية البروتوبلازم في المزرعة ثابتة •

ومن الواضح ، ان الوقت المبذول في طور الركود والطور الثابت يعد ضائعا عند انتاج خلايا ميكروبية ، ولهذا السبب تحولت صناعة الخميرة التجارية وصناعة البيرة تدريجيا الى طرائق حديثة متطورة من التخمر المستمر •

فالتخميرات المستمرة هي تلك التخمرات التي تضاف فيها بيئة مغذية جديدة اما باستمرار او بصورة متقطعة الى حوض التخمر ، ويصاحب ذلك سحب مماثل بصورة مستمرة او متقطعة لجزء من البيئة من أجل استرجاع الخلايا او نواتج التخمر • وهذا على خلاف عملية • التخمر المتقطعة او ذات الوجبة الواحدة والتي يلقح فيها حجم كبير من البيئة الغذائية ثم يسمح لحدوث النمو والتخليق الكيموحيوي لغاية الحصول على اعلى كمية ممكنة من الناتج • وعند هذه النقطة ، يتم ايقاف التخمر المتقطع من اجل استرجاع الناتج وينظف المخمر ويعاد تمقيمه ومن ثم يتم البدء بتخمير جديد • ومن اللوحة الاولى ، يبدو ان التخمر المستمر هو افضل الطريقتين وذلك بسبب الاستخدام الثابت لمعدات التخمر مع زمن توقف قليل • ومن الناحية النظرية في الاقل فان الانتاج الاضافي لثلاث بعبء التلقيح الاولي يمد غير ضروري • ورغم ذلك سنرى ان المشاكل المتأصلة والمرتبطة بعملية التخمر المستمر لاتسمح في الغالب باتجاه هذا الهدف •

والشكل (1.11) يوضح رسما تخطيطيا لايستجهاز يستخدم للتخمير المستمر للاجهاز المجهرية •



الشكل (1.11) رسم تخطيطي لتخمير مستمر

اذ ينمى الكائن الحي المجهرى في وعاء المزرعة تحت الظروف البيئية المرغوبة ، ويتم امداده بالبيئة الغذائية الجديدة باستمرار وبمعدل ثابت . وهذا يسمح بمستوى ثابت من سريان مائل التخمرات يتدفق الى وعاء الناتج وبمعدل مساو لمعدل دخول البيئة الى وعاء التخمر .

2 الطرق المختلفة للتخمير المستمر

Various Methods of Continuous Fermentation

يمكن اجراء التخمر المستمر بعدة طرق مختلفة . اذ يمكن اجراؤه بطريقة المرحلة الواحدة single stage ، التي فيها يلقح مخمر واحد ومن ثم يشغل بصورة مستمرة من طريق موازنة دخول المحلول المفدى وخروج المزرعة التي تم حصادها .

والطريقة الثانية هي التخمر المستمر الدوراني recycle continuous fermentation حيث يسحب جزءا من المزرعة او بقايا المواد المغذية غير المستعملة زائدا المزرعة المسعوبة وتعاد اضافتها الى وعاء التخمر . فمثلا في تخمر الهيدروكربون فان مادة التفاعل الهيدروكربونية غير المتخمة تضاف ثانية من اجل ان تهاجمها الاحياء المجهرية من جديد . وكذلك فان جزء من الاحياء الناتجة خلال التخمر المستمر يمكن اضافته ثانية في الحالات التي

يكون فيها مستوى مادة التفاعل المتيسرة الفعلية ، في المحلول المغذي الخاص بنمو الاحياء المجهرية منخفضا تماما . ومثال على هذا النوع من مواد التفاعل هو المحلول الكبريتي المتخلف بمحتواه المنخفض من الكربوهيدرات المتاحة ، وفي هذه الحالة تؤدي اضافة الغلایا ثانية الى تجهيز مجموع خلوي عال في المخمر وبالتالي الحصول على انتاجية أعلى .

والطريقة الثالثة هي التخمير المستمر المتعدد المراحل **multi-stage** وهذه تتضمن مرحلتين او اكثر مع تشغيل المخمر بالتتابع . ولاتمام هذه الطريقة يقسم التخمير الى عدة اطوار او اوجه بحيث ان طور النمو يحدث في مخمر المرحلة الاولى ، يتبمه مرحلة تخليقية في المخمر الثاني والمخمرات اللاحقة . ويكون التخمير المستمر المتعدد المراحل قابلا للتطبيق خصوصا في التخميرات التي يكون فيها النمو والنشاطات التخليقية للخلایا غير آنية ، أي أن التخليق لا يكون متعلقا بالنمو وانما يحدث بعد تناقص معدل تكاثر الخلايا .

3 . التحكم بالتخمير المستمر **Control of Continuous Fermentation**

هناك عدة وسائل يمكن بواسطتها التحكم بالنشاط الميكروبي في المزرعة المستمرة غير ان طريقتين فقط منها نالتا الاستحسان الكبير في التخميرات الصناعية هما **Chemostat , turbidostat** . وينبغي التنويه الى أن كل هذه الطرائق تكون سهلة التطبيق فقط في العمليات التخمرية ذات العلاقة بالنمو البسيط نسبيا في انتاج الخلايا الميكروبية كنواتج تخمر .

وفي حالة **turbidostat** يحافظ على المجموع الخلوي الكلي ثابتا وذلك باستخدام جهاز يقيس عكارة المزرعة لتنظيم معدل اضافة المواد المغذية الى المخمر ومعدل سحب المزرعة منه . واذا ارتفعت اعداد المجموع الى مستوى أعلى من المستوى المقدر سلفا فان كمية أكبر من بيئة جديدة تضاف الى المخمر لتخفيف تركيز الخلايا . وعليه لا توجد مادة مغذية محددة مفروضة تعتمد في هذه العملية ، أي ان معدل نمو الخلية ينبغي أن يكون دائما في اقصاه .

وعلى أية حال ، يجب ان يحافظ على النمو في طور النمور اللوغاريتمي او قريبا جدا منه . ويمد هذا العامل من المساوئ وذلك لوجوب تشغيل التخمير ،

بأقل عدد من الخلايا مما هو ممكن في حالة الـ **Chemostat** ، وهذا يسبب في وجوده متبقيات كثيرة من المواد الغذائية غير المستخدمة حيث تفقد من التخمر عندما تسحب المزرعة المحصودة .

في حين يحدث العكس في حالة الـ **Chemostat** ، اذ يحافظ الـ **Chemostat** على معدل إضافة المواد الغذائية وسحب المزرعة المحصودة عند قيم ثابتة ، الا أنها دائما اقل من تلك التي تسمح بأكبر معدل نمو . حيث يتحكم بمعدل النمو بواسطة تجهيز كمية محددة فقط من مواد النمو الغذائية الحرجة في المحلول الغذائي . وبالتالي فان تكاثر الخلايا لا يمكن أن يجري بمعدل اكبر من ذلك المسموح به بواسطة تيسر هذه المواد الغذائية الحرجة . وان عامل السيطرة او التحكم بالنمو قد لا يكون بالضرورة هو المادة الغذائية المحدودة ، وانما قد يكون تركيزا عاليا نسبيا من ناتج سام للتخمر ، او قيمة الـ **pH** او حتى درجة الحرارة . ويستخدم مفهوم الـ **Chemostat** للتخمر المستمر بدرجة اكبر من الـ **turbidostat** وذلك بسبب قلة المشاكل الميكانيكية التي تواجهها وبسبب وجود مواد غذائية متبقية غير مستخدمة اقل في المزرعة المحصودة .

وفي كلا الطريقتين من الضروري الحفاظ على مجموع خلوي ثابت في المخمر . وفي هذا المجال ، فان التغذية بمواد غذائية جديدة الى المخمر يكون حرجا ومهما لانه يكون ذا علاقة بوقت الجيل **generation time** للكائن الحي . وقد يسمح معدل سريان منخفض جدا للمزرعة ان تذهب الى اقصى الوجه الثابت من النمو بحيث لا يمكن المحافظة على الاتجاه المستمر للتخمر . وعلى العكس فان معدل سريان عاليا جدا بالنسبة الى وقت الجيل يستطيع ان يخفف المجموع الخلوي في المخمر بازالة الخلايا عند افراغ المزرعة بصورة اسرع من قدرتها على الامتلاء ثانية بواسطة النمو .

4 . الاعتبارات المهمة في التخمر المستمر

تشير العديد من الابحاث والدراسات الى ان انتاجية التخمر المستمر تكون كبير من التخمر المتقطع ذي الوجبة الواحدة . وبافتراض ان هذه الحالة صحيحة

اذن لماذا تحول عدد قليل من تخمرات الوجبة الواحدة بنجاح الى عملية تخمر مستمر ؟
بالتأكيد هناك عدة اجابات على ذلك : -

1 . ان عملية تخمر مستمر ناجحة تحتاج الى معرفة شاملة بالاتجاهات الديناميكية
للسلوك الميكروبي والنمو ، ومعرفة بنواقص اغلب عمليات التخمر الصناعي
بسبب تعقيدات النمو واساليب التخليق للحيايم المجهريه .

2 . يمرض التلوث والتطفر عملية التخمر المستمر الى مشاكل عديدة ، اذ ان
ان فترات التحضين الطويل المرتبطة بالتخميرات المستمر قد تسمح للملوثات
المجهريه باكتساب سطوة او هيمنة في المزرعة . رغم ان لبعض التخمرات
اجهزة سيطرة ذاتية ضد التلوث ، كوجود الكبريتيت عند pH منخفض في
المعلول الكبريتي المتخلف المستخدم في تنمية خميرة التوريلا . وقد اقترحت
اضافة المضادات الحيوية او المواد الكيميائية الى التخمرات المستمرة لكبح
مستوى نمو الملوثات .

ويصبح تطفر احياء التخمر متكللة فقط اذا كانت للخلايا الطفرية الناتجة
ميزة نمو انتقائية خلال فترة التحضين الطويلة . وبنفس الوقت تنتج كميات
أقل من ناتج التخمر المرغوب . ولتجنب التطفر اقترح استخدام تخمرات مستمرة
متعددة المراحل اذ تتم اعادة تلقيع المخمر الاول في سلسلة المخمرات دوريا .
وعلى الرغم من ذلك فان الحل الحقيقي والاجمالي لمشكلتي التلوث والتطفر
هو تقليص معدلات حدوثها بحيث ان الخلايا المؤذية يتم طردها من المخمر قبل
ان تتاح لها الفرصة للتكاثر .

3 . غالبا تقوم التخمرات المستمرة باضاعة للمواد الغذائية . وذلك لاحتواء سائل
التخمر الذي يسحب باستمرار من اجل استرجاع الناتج على كميات معينة من
المواد الغذائية غير المستخدمة المتبقية هن البيئة بالاضافة الى جزء من المكونات
الغذائية الجديدة المضافة باستمرار الى التخمر . وفي حالات قليلة ، من
الممكن فصل المواد الغذائية المتبقية من المزرعة المحصودة بحيث يمكن اعادتها
الى المخمر .

4 . تحتاج بعض بيئات التخمر الى استخدام مزج فعال في المخمر لتوزيع البيئة

الجديدة المضافة بالتساوي الى اجزاء السائل كافة الموجودة في المخمر . ان الحصول على مزج صحيح يعد مشكلة عندما تضاف المواد الغذائية الجديدة ببطء وبصرف النظر عن لزوجة البيئة .

5. أصبحت التخمرات المستمرة أكثر تعقيدا او صعوبة في الانجاز عندما يكون الناتج مادة كيميائية وليس خلية ميكروبية ، اذ غالبا ماتختلف الظروف المثلى لنمو الخلايا عن تلك المستخدمة لاعطاء الناتج الكيميائي . وهذه الصورة أصبحت أكثر تعقيدا في حالة التخمر المتقطع ذا الوجبة الواحدة ، اذ أن تتابع تكوين النواتج الوسطية في الخلايا أو في البيئة يكون متبوعا باعادة استخدام هذه المركبات من قبل الخلايا اثناء النمو وتكوين الناتج . ومن الجلي ، اذا أجري تخمر مستمر من مرحلة واحدة لهذه التخمرات ، وجوب الوصول الى حلول للظروف التفضيلية والفيزيائية المستخدمة فسي التخمر . ويبدو أن البديل هو التخمر المستمر المتعدد المراحل الذي يسمح بالنمو في المرحلة الاولى ولتكوين الناتج في المرحلة الثانية وما يليها من مراحل .

ان طريقة أخرى مماثلة نوعا ما للتخمر المستمر لكنها لا تقع ضمنه وهي استخدام اضافات متأخرة للمواد المغذية الى التخمر المتقطع ذي الوجبة الواحدة . وبالتالي اذا كانت هناك مادة تفاعل سامة نوعا ما للكائن الحي المجهرى ، فيمكن اضافتها في وقت تركيب البيئة وعلى مراحل خلال التخمر بحيث يتم الحفاظ على مستويات كلية منخفضة نسبيا .

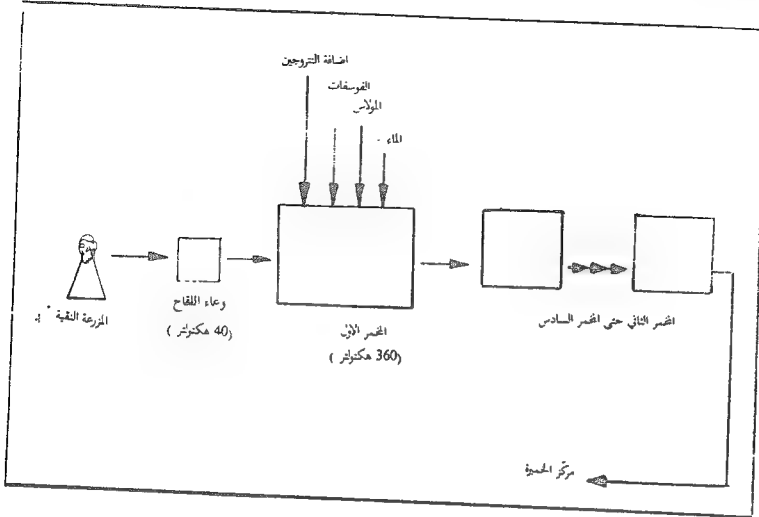
أيضا اذا كان الكائن الحي يستخدم ظاهرة diauxie phenomenon ، فيمكن اضافة مادة التفاعل الاولى في البداية ، وتضاف الثانية او مادة التفاعل البديلة خلال التخمر عند وقت تكون مادة التفاعل الاولى قد اختفت تقريبا .

وكذلك تحدث الاضافة المتأخرة للمواد المغذية عندما تضاف الامونيا خلال التخمر لابطال او لمعادلة الانخفاض في قيم pH التخمر . وتقوم هذه الامونيا بتجهيز نيتروجين اضافي للكائن الحي المجهرى . وقد تسبب نتائج تخميرية متنوعة اذا وجب ان يكون مستوى النيتروجين في البيئة هو العامل المسيطر في التخمر .

5 . أشهر أنواع التخمرات المستمرة

درس العديد من العمليات التخمرية في الاقل على نطاق معلمي تجريبي
لامكانية تحويلها الى عمليات تخمر مستمر . ومن ضمن عمليات تخمر عديدة كتب
النجاح لتحويل بعضها الى تخمرات مستمرة هي :
انتاج البيرة ، وانتاج الخمائر العلفية (من المحلول الكبريتيتي المتخلف) ، والخل
وخميرة الخباز (من المولاس) ، وانتاج بعض المضادات الحيوية مثل الكلوروامفينيكول
والبنسلين ، والستربتومايسين ، وصناعة النبيذ ، وانتاج فيتامين B_{12}
والانتاج المستمر لبروتين الطحالب . وكذلك تستخدم هذه الطريقة في التخلص
من المخلفات .

ويوضح الشكل (2.11) عملية مستمرة لانتاج خميرة الخباز في بيئة
المولاس وهي متكونة من ستة مخمرات متصلة ببعضها بصورة متسلسلة بدلا من
استخدام مخمر واحد كبير .



الشكل (2.11) رسم تخطيطي لتخمر مزرعة مستمرة من خميرة الخباز .

ولاتزال الدراسات جارية لتحويل تخمرات الوجبة الواحدة الى تخمرات مستمرة اقتصادا في حجم أوعية ومعدات التخمر وما يدخل في تماس مع العملية التخمرية وكذلك اقتصادا في التكاليف والعمالة بالاضافة الى الحصول على صفات منتظمة وموحدة للنتائج . ولكن يجب ان لا يغرب عن البال ان من المشاكل التي تواجه التخمرات المستمرة ، انه اذا حدث خطأ او خلل او تلوث في احدى خطوات التخمر فان ذلك يؤدي الى ايقاف العمل بأكمله وهذا قد يؤدي الى خسارة اقتصادية كبيرة ، وبمكس تخمرات الوجبة الواحدة التي يتم فيها الاستغناء عن تلك المرحلة التي حدث فيها الخطأ واكمال التخمر بعد تحضير بايدي جديد اذا لزم الامر .

الفصل الثاني عشر

كشف وتحليل نواتج التخمر

Detection and Assay of Fermentation Products

- 1 . مقدمة
- 2 . طرق التحليل الفيزيوكيميائية
 - 2 . 1 . طرق تقدير الكثافة والوزن النوعي
 - 2 . 2 . التبخير والتقطير
 - 2 . 3 . التحليل الحجمي والوزني
 - 2 . 4 . قياس الامس الهيدروجيني
 - 2 . 5 . التحليل بالالكترودات الايونية الانتقائية
 - 2 . 6 . طرق القياس بانكسار الضوء
 - 2 . 7 . طرق القياس بالاستقطاب الضوئي
 - 2 . 8 . التحليل الطيفي
 - 2 . 9 . طرق قياس المكاراة
 - 2 . 10 . التحليل بالوميض
 - 2 . 11 . الامتصاص
 - 2 . 12 . التحليل الكروماتوجرافي

- 2 . 12 . 1 . التحليل الكروماتوجرافي بالامتزاز
- 2 . 12 . 2 . التحليل الكروماتوجرافي بالفصل أو التجزيء
- 2 . 12 . 3 . التحليل الكروماتوجرافي بالطبقة الرقيقة
- 2 . 12 . 4 . التحليل الكروماتوجرافي الغازي
- 2 . 12 . 5 . التحليل الكروماتوجرافي السائل
- 2 . 13 . إلتبادل الايوني
- 2 . 14 . الغريلة الجزيئية أو الترشيح بالهلام
- 3 . طرق التحليل، البيولوجية
 - 3 . 1 . طرق التحليل بالانتشار
 - 3 . 2 . طرق التحليل بقياس العكارة والنمو
 - 3 . 3 . طرق التحليل بالاستجابة الايضية
 - 3 . 4 . طرق التحليل الانزيمية

تحتاج الغزيلة الثانوية - والى حد ما الغزيلة الاولى - الى طرق جيدة للكشف عن نواتج التخمر وتحليلها . ويعد هذا صحيحا بالنسبة لمعظم دراسات التخمر وفي جميع مجالات تطويرها . وينبغي ان تكون هذه الطرق سريعة وبسيطة وموثوقة ودقيقة ، ويجب ان يقاس المركب المراد تقديره فقط في وجود تراكيز عالية نسبيا من المواد الكيميائية المختلفة الموجودة في بيئة النمو . وغالبا ما تقع هذه الطرق التحليلية في احدى الفئتين : طرق التحليل الفيزيوكيميائية **Physiochemical Assays** وطرق التحليل البيولوجية **Biological Assays** . وفي بعض الاحيان قد تستخدم اكثر من طريقة في الكشف عن مكون معين وتقديره في بيئة النمو أو تنبئه خلال عملية التخمر ، وبالتالي فان اختيار طريقة التحليل تتوقف على سهولة الاداء ودقة النتائج المتحصل عليها فضلا عن كونها سريعة .

2 . طرق التحليل الفيزيوكيميائية **Physiochemical Assays**

هناك أنواع عديدة من طرق التحليل الفيزيوكيميائية تستخدم في الكشف عن النواتج الخام لعملية التخمر وتقديرها ، وان اختيار طريقة تحليل معينة يعتمد على اختيارية التفاعل أو التحليل الكيميائي نظرا لاحتواء سوائل التخمر على مركبات عديدة فضلا عن تلك التي يراد تقديرها . وفي الحقيقة ، يستلزم الامر في بعض الحالات اجراء تنقية مبدئية لنواتج التخمر قبل اجراء التحليل .

ولقد تطورت طرق التحليل الفيزيوكيميائية على أساس من الدراسات التي تربط بين تركيب المادة وخواصها ، والتي ينتج عنها علاقات بيانية على هيئة منحنيات العلاقة بين التراكيب وخواصها الطبيعية معينة . وعن طرق هذه المنحنيات يمكن تعيين المكونات الثابتة وغير الثابتة وتراكيزها في المواد التي تتم دراستها .

واعتقادا على الخواص الفيزيوكيميائية للسادة ، اسكن التوصل الى عدة طرق لتقدير المواد تقديرا كيميا . وما هو جدير بالذكر انه لا توجد حدود فاصلة بين الطرق الفيزيائية التي تعتمد على الخواص الفيزيائية فقط وبين الطرق الفيزيوكيميائية وغالبا ما يوضع كل منهما تحت اسم الطرق المعتمدة على الاجهزة .

وقد أخذت طرق التحليل الفيزيوكيميائية أخيرا في الانتشار وهذا يرجع

الى حساسيتها العالية مقارنة بالطرق العادية. اذ يمكن بواسطة هذه الطرق تقدير تركيزات تصل الى حوالي 10^{-8} — 10^{-10} جرام / لتر بينما تستطيع الطرق العادية ان تقدر 10^{-5} — 10^{-6} جرام / لتر من نفس المادة . والى جانب ذلك تعد الطرق الفيزيوكيميائية من الطرق الاختيارية اذ يمكن تقدير مكن ما في وجود مكونات اخرى لا تتداخل في التقدير ، وبالتالي لا يحتاج المحلل الى العمليات المعقدة التي تتم في الطرق العادية .

وايضا من ميزات هذه الطرق ، هو امكانية تقدير اكثر من مادة واحدة في نفس النموذج ويمكن تقسيم طرق التحليل الفيزيوكيميائية الى طرق مباشرة واخرى غير مباشرة .

ففي طرق التحليل المباشرة ، تؤخذ خاصية معينة كوسيلة لتقدير كمية المادة وذلك من منحنى العلاقة بين التركيب وخاصية طبيعية معينة ، وعادة ما يتم عمل المنحنى في صورة منحنى قياسي Standard curve في مدى مناسب من تركيزات المادة النقية ويستعمل هذا لتقدير تركيز المجهول .

اما الطرق غير المباشرة ، فانها تستخدم خاصية استنتاج نهاية التفاضل الكيماوي بين الكاشف reagent المستعمل وبين المكون المراد تقديره ، وفي هذه الحالة تقوم بوظيفة الدليل الحاسم في التحليل العجى لتقدير المكون . وفيما يلي عدد من الطرق المستخدمة في التقدير الوصفي والكمي لمكونات بيئية ونواتج التخمير .

2. 1. طرق تقدير الكثافة والوزن النوعي Density and Specific Gravity

تعرف كثافة المادة بأنها كتلة تلك المادة (بالفرامات) لكل وحدة حجم (بالس³) عند درجة حرارة معينة . بينما يعرف الوزن النوعي بأنه النسبة بين وزن وحجم معين من المادة عند درجة حرارة معينة وبين نفس الحجم من الماء على درجة حرارة 4° م .

ونعبر هذه القيمة عن الوزن الحقيقي للمادة عند تلك الدرجة الحرارية اذ

ان كثافة الماء عند حوالي 4° م تساوي الوحدة . ونظرا لصعوبة اجراء التقدير عند درجة حرارة 4 م فقد جرت المادة على اجرائه بدرجة حرارة الغرفة وعليه ينتج الوزن النوعي النسبي ، وهو عبارة عن النسبة بين وزن وحجم معين من المادة عند درجة حرارة معينة الى وزن نفس الحجم من الماء عند نفس الدرجة الحرارية .

وفي كثير من الحالات نجد ان الوزن النوعي النسبي يكون كافيا الا اذا اريد معرفة الوزن النوعي الحقيقي ، وفي هذه الحالة تضرب قيمة الوزن النوعي النسبي γ كثافة الماء عند الدرجة المطلوبة .

وتبنى الطرق العادية لتقدير الوزن النوعي على اساس النسبة الوزنية لحجمين متساويين ، او النسبة الحجمية لوزنين متساويين . فطريقة قنينة الكثافة Pycnometer وميزان يستفال Westphal balance مبنيتان على مقارنة اوزان الحجوم المتساوية ، اما الهيدرومترات Hydrometers فهي مبنية على مقارنة نسبة حجوم الاوزان المتساوية .

وتعد طرق قياس الكثافة والوزن النوعي طرقا سريعة لاعطاء مؤشرات اولية من سوائل التخدير المختلفة قبل بدء التخمر وخلالها وبمده . اذ تستخدم الهيدرومترات بكثرة في قياس تركيز المواد الصلبة الذائبة الكلية مثل هيدرومتر بالنج Balling او بركس Brix° او سكروميتر Saccharometer ، وهذه تستخدم للدلالة على النسبة المئوية للسكر في المحلول . كما يستخدم مقياس الكحول (الكحولوميتر) Alcoholmeter في قياس نسبة الكحول بالمحلول اذ يشير الى النسبة المئوية للكحول الايثيلي بالوزن او الحجم .

ويجب ملاحظة أن درجة الحرارة تؤثر كثيرا في القياس وعليه ينبغي تقديرها أثناء التياس ومن ثم تصحيح قراءة الهيدرومتر للوصول الى القراءة الصحيحة . وهناك جداول خاصة موجودة في اي كتاب عن طرق التحليل تعني بتصحيح درجة الحرارة بالنسبة لقراءة الهيدرومتر .

2 . 2 . التبخير والتقطير Evaporation and Distillation

وتعد هذه من الطرق الشائعة في تنقية المذيبات او في فصل مخاليط المحاليل

القابلة للامتزاج مع بعضها . كما هو الحال في تقدير الكحول الناتج من بعض التخميرات الكحولية مثل الكحول الصناعي والبيرة والنبيد والمشروبات المقطرة .

اذ تؤخذ البيئة المتخمرة ويفصل ناتج التخمير (الكحول على سبيل المثال) بالتقطير على اساس الاختلاف في درجة غليان مخاليط الماء والكحول . ويعد جهاز مقياس الكحول Ebulliometer أبسط وسيلة مباشرة لتقدير نسبة الكحول في بيئة التخمير . او ان يقطر الكحول من بيئة التخمير ويفصل نقيا ومن ثم تقدير تركيزه بوسائل اخرى مثل استخدام الهيدرومتر ، او باستخدام قنينة الكثافة Pycnometer لمعرفة وزنه النوعي الذي يمكن ان يحول الى تركيز وزني او حجمي من جداول خاصة . او بقياس معامل انكسار السائل المقطر وتحويل ذلك الى ما يقابله من تركيز ، او بتحويل الكحول الى حامض الخليك بعملية اكسدة كيميائية بشائبي الكرومات .

2 . 3 . التحليل الحجمي والوزني Volumetric and Gravimetric Analysis

تحتوي بيئة التخمير على العديد من المركبات المختلفة التي يمكن تقديرها كيميا بطرق حجمية أو وزنية منها السكريات والاحماض العضوية والبروتينات والاحماض الامينية والكحولات وغيرها . وان استعمال طريقة التحليل المعينة يتوقف على سهولة اجرائها ودقة النتائج المتحصل عليها للوقوف على سير عملية التخمير خطوة بخطوة . اذ يمكن التأكد من سلامة العملية التخميرية وبدء تراكم النواتج المرغوب وحدوث التلوث أو دخول التخمير الى مرحلة نير مرغوبة . وايضا فان هذه الطرق التحليلية تعطي فكرة سريعة عن موعد اضافة بعض المواد المغذية الى بيئة التخمير للوصول الى الناتج المرغوب . ويعد تسحيح حجم معلوم من بيئة التخمير مع قلوي معلوم التركيز طريقة شائعة في تقدير الحموضة الكلية . ففي التخميرات الكحولية لانتاج المشروبات الكحولية يعد تراكم حامض الخليك في بيئة التخمير مؤشرا على دخول التخمير مرحلة غير مرغوبة كنتيجة للتنوية الزائدة والتلوث بالاحياء المجهرية الهوائية . في حين يمكن متابعة انتاج الاحماض العضوية كحامض اللاكتيك والستريك في بيئة انتاجها من التسحيح المتتابع خلال فترة التخمير بقاعدة معلومة المعيارية وبوجود دليل لوني أو باستخدام طريقة التسحيح

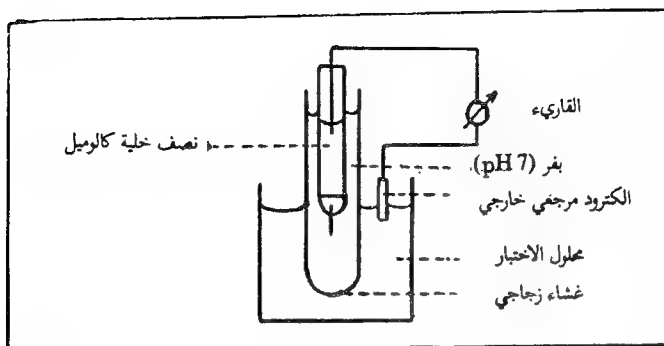
بواسطة فرق الجهد الكهربائي Potentiometric titration بدون اضافة دليل لوني خصوصا عندما يكون المحلول نفسه ملونا بحيث يصعب معرفة نقطة الانتهاء من التسحيح . واذا كان العاوض له المقدرة على تكوين املاح غير ذائبة في بيئة التخمر ، فانه بالامكان ترسيبه وغسله وتجفيفه ثم وزنه لمعرفة كميته . وبعض الاحماض العضوية وخصوصا المتطايرة منها يمكن تقطيرها بالبخار مباشرة من بيئة التخمر وجمع المتقطر وتسعيه بقاعدة معلومة التركيز لمعرفة كميته . واذا كانت الاحماض العضوية عالية الوزن الجزيئي فقد تفصل من بيئة التخمر بالامتزاز على مادة ماصة adsorbent مناسبة او فصلها بواسطة مبادل ايوني مناسب ثم استردادها بكمية مناسبة من محلول الاسترداد واخيرا اجراء التسحيح بقلوي قياسي وكذلك يمكن تقدير السكريات المتبقية في بيئة التخمر حيميا او وزنيا لمعرفة المقدار المستهلك منها من قبل احياء التخمر المجهرية وذلك لحساب الناتج المتوقع من العملية التخمرية . وفي تقدير بعض نواتج التخمر قد تقبـع طريقة التحليل الحجمي او الوزني او طريقة تحليل لونية colorimetric .

4 . قياس الاس الهيدروجيني pH-measurement :

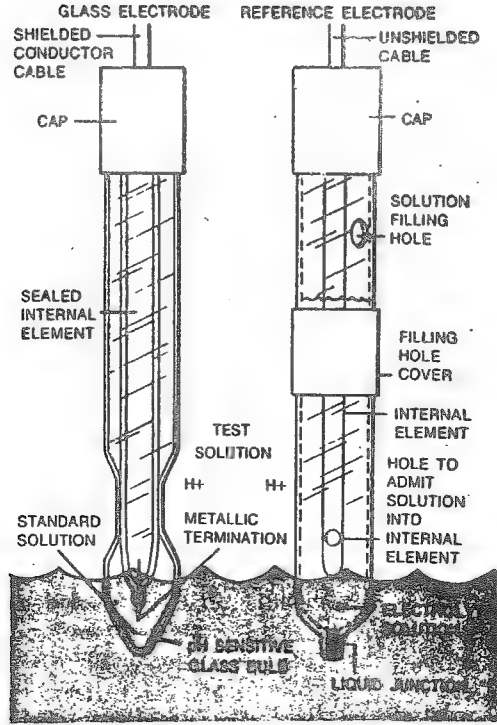
يعد الاس الهيدروجيني (pH) في الانظمة البيولوجية ذا اهمية كبيرة تفوق اهمية الحموضة الكلية . فهو مهم في تأثيره في احياء المجهرية ، وفي اضعاف ظلال لونية معينة ، وفي جهد الاكسدة والاختزال ، وفي نسب المكونات الحرة الى المرتبطة وغيرها . وتجري معظم التخميرات تحت ظروف محكمة ومسيطر عليها من الـ pH . وتكون اجهزة التخمر مزودة بمكانيكية معينة للكشف عن قيم pH بيئة التخمر ولتثبيت هذه القيم خلال التخمر ، اذ يتضمن اخذ نماذج من البيئة لتقدير الـ pH بين فترة واخرى يليه اضافة من القلوي او العاوض الى بيئة التخمر الرئيسية حسب الحاجة .

والاس الهيدروجيني (pH) ما هو الا دالة لوغاريتمية لتركيز ايونات الهيدروجين الحرة في المحلول . ويختلف عن الحموضة الكلية القابلة للتسحيح في كون الاخيرة قياسا لايونات الهيدروجين الحرة والمربطة . وعليه لا توجد علاقة مباشرة بين الاس الهيدروجيني للمحلول وبين حموضته الكلية ، الا انه عن طريق قياس الاس الهيدروجيني يمكن اخذ فكرة عن درجة حموضه المحلول .

وعادة يقاس الاس الهيدروجيني باجهزة معينة pH-meters ، وهذه الاجهزة تستخدم الكترودات (أقطاب كهربائية) زجاجية لقياس فعالية أيون الهيدروجين . وتتكون الالكترودات الزجاجية من أغلفة زجاجية رقيقة يوجد عبرها وسيلة نقل الجهد المنسوب الى فعالية ايون الهيدروجين في المحلول . والاساس العام للقياس يعود الى أن سطح الزجاج يصبح مهدتا ويكون هلاما عندما يوضع في المحلول المراد اختباره ، حيث تقوم أيونات الهيدروجين بنقل شحنة الى هذا السطح . ويمر التنوير ذرة بعد ذرة خلال الجزء الجاف والى السطح الداخلي . ويوجد على السطح الداخلي للالكترود الزجاجي محلول منظم (بفر) PH 7.0 . وهناك الكترود قياسي من الكالوميل مفلق ومنمور في المحلول المنظم كما هو مبين في الشكل (1.12) والشكل (2.12) وذلك للحفاظ على البفر عند جهد معلوم ولاكمال الخلية الكهربائية . ويكون هذا الالكترود الاخير مرتبطا بالكترود مرجعي منمور في المحلول المراد اختباره .



الشكل (1.12) . رسم تخطيطي لالكترود زجاجي وما يرتبط به



الفصل (2. 12) • الكترود قياس الاس الهيدروجيني (pH)

والاسلوب المتعارف في التشغيل هو بوضع الالكترودان في محلول معروف ال pH . (محلول بنر) ومن ثم ضبط مقياس الجهاز . ثم يوضع الالكترودان في المحلول المراد اختباره ، فأي اختلاف في فعالية ايسون الهيدروجين هن تدريج ال pH . ~~يظهر~~ في فرق جهد عبر الغشاء الزجاجي ومن ثم اضطراب النظام .

لذلك فان مقدار فرق الجهد اللازم لاعادة توازن الجهاز يتم قراءته بشكل وحدات ال pH .

2 . 5 . التحليل بالالكترودات الايونية الانتقالية Selective Ion Electrodes

في السنوات الاخيرة ، أصبحت الالكترودات التي تفصل الايونات انتقائيا وتقيس احدها بشكل تفضيلي من الوسائل الشائعة الاستعمال . وتكمن ميزة هذه الالكترودات في تخصصها وقدرتها على قياس كميات ضئيلة جدا بدرجة عالية من الدقة . وتقع هذه الالكترودات في نفس قسم الالكترودات الزجاجية الخاصة بقياس فعالية ايون الهيدروجين PH . اذ تسبب هذه الالكترودات في جهسد كهربائي يمكن ان يطور ليتناسب طرديا مع تركيز الايون أو الغاز موضع السؤال . وتحتاج معظم الالكترودات الى وجود الكترود مرجعي يجهز اتصالا كهربائيا بالمحلول المختبر والى فولتية ثابتة لاغراض المقارنة .

واساسا ، سواء كان الغاز هو الذي يقاس أم الايونات ، فان هذه الالكترودات تتكون من غشاء حامل ، ومحلول ملاء داخلي ، واداة حدوث الاتصال الكهربائي ، وجسم مناسب ، والوصلات الكهربائية الضرورية . وتشير معادلة نيرنست :

$$E = E_0 + 2.3 \frac{RT}{nF} \log A$$

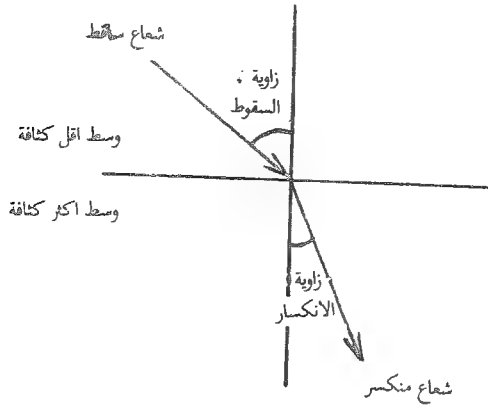
الى علاقة الجهد المولد E بالتركيز ، وبصورة أفضل بفعالية الاميون موضع السؤال في المحلول المختبر A .

وبالامكان تقسيم استعمال هذه الالكترودات الى ثلاث فئات :-

(أ) القراءة المباشرة لفرق الجهد ، (ب) طريقة الاضافة ، (ج) مرشد نقطة نهاية التسحيح . ويمكن ادخال الانزيمات الثابتة **immobilized enzymes** في هذه الالكترودات ، ومن ثم يمكن قياس نواتج التفاعلات الانزيمية . وتبدو هذه الطريقة مفيدة في الانظمة الانزيمية المنتجة لغاز ثاني اوكسيد الكربون ، حيث يمكن ادخال الكترود حساس للغاز وتقاس مادة التفاعل المعنية بصورة غير مباشرة عن طريق قياس التفاعل الانزيمي وانطلاق غاز ثاني اوكسيد الكربون .

2 . 6 . طرق القياس بانكسار الضوء Refractometric Methods

يستخدم تقدير معامل الانكسار refractive index في بعض التخميرات ، اذ يعد معامل انكسار المواد النقية ثابتا ومميزا طبيعيا لها . وبين الجدول (12 . 1) معامل انكسار بعض المذيبات الشائعة - وباستثناء الكحول الميثيلي فان معامل انكسار المحاليل المائية يكون اكبر من معامل انكسار الماء النقي الذي يساوي 1.3330 . والاساس العلمي يعتمد على انه اذا مر شعاع ضوئي من وسط الى آخر فانه ينحرف عن اتجاهه الاصلي أي ينكسر . والزاوية التي يكونها الشعاع الساقط مع العمود المقام على سطح الانفصال عند نقطة السقوط تدعى بزاوية السقوط ، والزاوية التي يكونها الشعاع المنكسر مع العمود النازل من نقطة الانكسار تدعى بزاوية الانكسار .



ويطلق على النسبة بين جيب زاوية السقوط وجيب زاوية الانكسار بمعامل الانكسار . وهذه تكون ثابتة دائما بالنسبة لأي وسط عند طول موجي معين ودرجة حرارة ثابتة . ويوضح معامل الانكسار التغير في سرعة الضوء المار من وسط الى آخر ، وهو مساو لنسبة مرعة الضوء المار في كلا الوسطين .

ويختلف معامل الانكسار باختلاف طول موجة الضوء ، فهو يزداد من الاحمر الى البنفسجي من الوان الطيف ، أي أنه يزداد بنقصان طول الموجة . وعندما

تنكسر اشعة الضوء البيضاء فانها تتحلل الى ضوء ذي الوان منشورية مختلفة
 prismatic colors ، وهذا الانكسار غير المتجانس للضوء ذي اطوال الموجات
 المختلفة يطلق عليه بالانتشار dispersion . وعادة يقل معامل الانكسار
 للسوائل والمواد بارتفاع درجة الحرارة ، ويظهر هذا بوضوح في السوائل اكثر
 من الجوامد . ويقل معامل انكسار المحاليل السكرية بتأثير درجة الحرارة بنفس
 النسبة تقريبا التي تؤثر في وزنها النوعي . لذلك فان جداول تصحيح الحرارة
 لهيدرومتر بركس او بالنج يمكن استخدامها لتصحيح معامل الانكسار ، اذ تؤخذ
 قراءة معامل الانكسار على درجة حرارة الغرفة ثم تحول الى نسبة مئوية من السكر
 عند تلك الدرجة ثم تصحح القراءة بعد ذلك . ولكن المفضل ضبط درجة حرارة
 السائل المراد اختباره عند الدرجات القياسية (20° م أو 25° م) ، فلما بأن
 كل خطأ في جزء من عشرة اجزاء درجة الحرارة يؤدي الى خطأ في معامل الانكسار
 بمقدار وحدة او وحدتين من الرقم العشري الرابع .

والاجهزة المستخدمة في قياس معامل الانكسار تسمى الرفراكتوميترات
 Refractometers ومنها أنواع عديدة أهمها رفرأكتوميتر أبي
 Abbe Refractometer ورفراكتوميتر الجيب Pocket Refractometer .

2 . 7 . طرق القياس بالاستقطاب، الضوئي Polarimetric Methods

يعد قياس استدارة الضوء المستقطب واحدا من افضل الطرائق المستخدمة
 في قياس تراكيز وتقدير المركبات الفعالة (النشطة) ضوئيا . اذ تقوم هذه
 المركبات بإدارة الضوء المستقطب الى اليمين او الى اليسار تبعا لطبيعة تركيبها
 الجزيئي . ويصطلح على المركبات التي تعمل على استدارة الضوء المستقطب
 باتجاه عقرب الساعة (الى اليمين) بتسميتها (d) اي يمينية الدوران
 dextrorotatory والتي تديره عكس اتجاه عقرب الساعة (الى اليسار)
 اسم (l) اي يسارية الدوران Levorotatory . وهنا ينبغي التثبت من أن
 هذه الصفة ليس لها علاقة بصيغ D- و L- للمركب . ولا تنحصر الفائدة من قياس
 الاستقطاب الضوئي بتقدير تراكيز المركب الفعال ضوئيا بل انها ذات فائدة كبرى
 في التعرف على نقاوته أيضا وتقاس استدارة الضوء المستقطب باستخدام جهاز

قياس الضوء المستقطب (قياس الاستقطاب Polarimeter) . ويتألف الجهاز من الاجزاء التالية والموضحة في الشكل (12 . 4) والشكل (12 . 3) .

- 1 . مصدر الضوء Light source — وتحتوي بعض الاجهزة على مصباح الصوديوم أو مصباح تنجستن Tungsten اعتيادي مع مرشح ثنائي الكرومات لتوليد ضوء اعتيادي ذي طول موجي قدره 589 نانوميتر .
- 2 . وحدة الاستقطاب Polarizer — وتتألف من منشور نيكول Nicol prism الذي يتكون من منشورين ملتصقين ببعضها بواسطة بلسم كندا . ويقوم هذا الجزء بتحويل الضوء الاعتيادي (يتذبذب في عدة مستويات عمودية على مصدر الضوء) الى ضوء مستقطب (يتذبذب في مستوى واحد) .
- 3 . خلية النموذج Sample cell — وهذه تكون مصنوعة من الزجاج وذات طول معين معلوم .
- 4 . المحلل Analyzer — ويتكون اساسا من قرص مدرج بتدرجات عشرية يتوسطها صفر ، وتكون التدرجات على الجهة اليمنى او اليسرى لنقطة الصفر متساوية ولكنها في الاشارة فحسب . والقراءة المتحصلة ماهي الا درجة الاستدارة التي تعبر عن مقدار التدوير الذي حصل للضوء المستقطب بالدرجات ، حيث يمكن بواسطتها حساب تركيز المركب الفعال ضوئيا في حالة معرفة الاستدارة النوعية له ، او يمكن استعمالها للتعرف على نقاوة محلول معلوم التركيز من المركب وذلك بحساب الاستدارة النوعية ومقارنتها مع القيمة المستخرجة من المصادر . ويتم الحساب تبعا للمعادلة الاتية :

$$[\infty]^T = \frac{\infty}{D \cdot l \cdot c}$$

حيث : $[\infty]^T_D$ = الاستدارة النوعية على درجة حرارة (T) وطول موجي

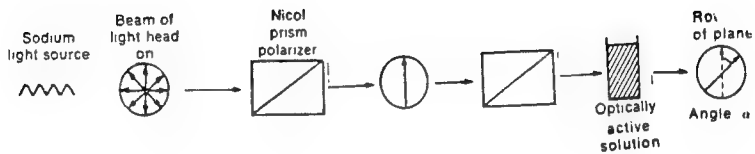
يساوي الى ضوء الصوديوم (D-line) والذي يساوي 589

نانوميتر

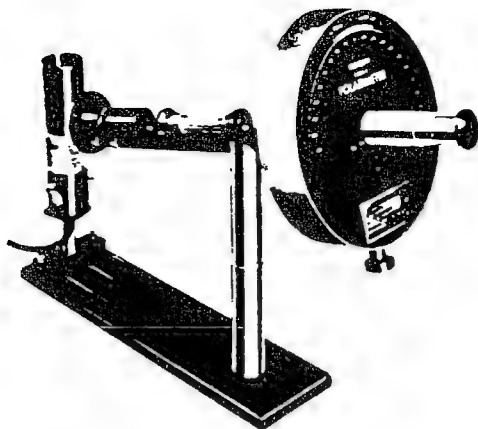
∞ = درجة الاستدارة المقاسة بالدرجات

1 = طول خلية النموذج (مسار الضوء المستقطب في النموذج)

بالديسيمتر .



الشكل (3 . 12) رسم تخطيطي للاستقطاب الضوئي



الشكل (4 . 12) جهاز قياس الضوء المستقطب

$c = \text{تركيز المركب الفعال ضوئيا بوحدة غم/مل} \cdot$

وهناك صيغ أخرى للمعادلة تستعمل تبعا لوحدات التركيز المستعملة ، كما

نستعمل الصيغة التالية في حالة كون وحدات التركيز غم/100 مل :

$$[\infty] T_D = \frac{\infty (100)}{1 (g)}$$

حيث : $g = \text{وزن المركب بالغرام} / 100 \text{ مل}$

2 . 8 . التحليل الطيفي Spectrophotometry :

تستخدم طرق التحليل الطيفية أنواعا متعددة من المطياف (سيكتروفوتوميتر) Spectrophotometer لقياس كمية امتصاص الضوء المنظور أو غير المنظور - الأشعة فوق البنفسجية - المر من المحاليل الملونة أو الشفافة ، أو شدة الوميض المنبعث من المواد المنيرة (الفلورة) fluorescence أو المنبعث منها عند تعريضها للأشعة - وإلى القينا نظرة بسيطة لأجهزة القياسات البصرية لوجدنا مثلا أن أجهزة المقارنات البصرية visual comparators تعتمد على أشياء بسيطة من أهمها تغيل العين البشرية التي ينتابها شيء من التعب وكذلك قلة حساسيتها التي يصعب تفاديها تحت طول موجي 450 نانوميتر وأعلى من 675 نانوميتر . في حين تعد أجهزة القياسات الضوئية ذات المرشحات filter photometers (أو أجهزة قياس الألوان colorimeters) أكثر ملائمة لكثير من الطمسرق الروتينية التي لا تتضمن أطيافا معقدة . في حين أن لأجهزة القياس الطيفية (سيكتروفوتوميتر) مدى واسعا من الدقة في مجال تلك الأطياف المعقدة ، وهذه الأخيرة لها القدرة على استخدام عرض ضيق لحزمة الطاقة الاشعاعية أي أن التقدير يتم على أساس طول موجة الشعاع .

إن تحديدات معظم الطرق اللونية تقع أساسا على عاتق التفاعلات الكيميائية التي عليها تتحدد دقة الطريقة ، وليست بالقدر الذي يقع أساسا على الأجهزة الملائمة للتقدير . وتتوقف معظم الصعوبات التي تواجه هذه الطرق من التحليل على مدى موازنة واختيار التفاعل المسبب للون مع المادة المراد تقديرها . وعموما هناك عدد من النقاط الواجب وضعها في الاعتبار عند اختيار أي طريقة لونية منها :-

- (1) نوعية تفاعل تكوين اللون .
- (2) ثبات الوقت للنظام بالنسبة لمظهر اللون .
- (3) تأثيرات كل من الكواشف reagents الزائدة ، والايونات الغريبة المختلفة ، والامس الهيدروجيني ، والقوة الايونية ، ودرجة الحرارة .
- (4) مطابقة قانون بيير Beer's law (هذه المطابقة ضرورية عند حدود معينة) .

(5) الامتصاصية الجزيئية (المولية) molar absorptivity

وفضلاً عن تقدير خطأ التركيز النسبي وأهمية عرض فتحة الضوء في التحكم في الطاقة الاشعاعية الداخلة الى العينة ، ينبغي توجيه اهتمام خاص الى اختيار طول الموجة الملائم لعملية التقدير . اذ تعد هذه العملية أساس كل التقديرات اللونية ، وتعمل أجهزة القياس الطيفية على انجاز هذا بنجاح وذلك عن طريق رسم العلاقة بين اطوال الموجات المختلفة والنفاذية transmittance أو نسبة النفاذية لتركيز واحد من المحلول الملون ، اذ يتحصل على منحنى مقلوب القسمة تمثل قمته اقل نفاذية ممكنة عند الطول الموجي الملائم . اما اذا رسمت العلاقة بين أطوال الموجات والامتصاص الضوئي absorbance فانه يتحصل على منحنى معاكس للسابق تكون قمته لاعلى ، حيث تمثل هذه القيمة اعلى امتصاص للون المختبر .

لذلك فان السبكتروفوتوميتر من النوع الذي يقيس الالوان يكون حساساً للضوء المنظور في مدى يتفاوت بين 380—800 نانوميتر . فهو يقيس مقدار الضوء عند طول موجة معينة ، او حزمة ضيقة من الاطوال الموجية ، الممتص كحزمة ضوئية تمر خلال المحلول الملون . وكل لون يمتص الضوء عند طول موجي معين . ان نواتج التخمير التي تكون ملونة بعد ذاتها ولكن بالوان تختلف عن البيئة يمكن قياسها مباشرة في جهاز قياس الالوان colorimeter او ربما بعد خطوة تنقية بسيطة . وعليه يتم اختيار طول الموجة الفعلي للشماع المستخدم بحيث يستطيع المركب المراد تقديره من امتصاص الالوان الغريبة من البيئة اقل ما يمكن . وكذلك بالامكان تقليل تأثير الالوان الغريبة باستخدام بيئة غير ملقحة ومخففة الى نفس

المدى كما هو الحال مع النموذج وذلك لضبط الجهاز على 100% نفاذية ضوئية .
ويحضر منحني قياسي للملاقة بين الامتصاص الضوئي والتركيز المختلفة من
المركب النقي اذا كان الاخير متيسرا . ومن الملائم ان يطابق هذا الرسم قانون
بيير ، أي ينبغي أن تكون العلاقة بين شدة اللون (الامتصاص) وتركيز ناتج
التخمير خطية في مدى تراكيز معينة .

وقد لا يكون لناتج التخمير نفسه لون منظور ، لذلك يبقى جهاز التحليل
اللونى قابلا للاستخدام مع ناتج من هذا النوع . وفي مثل هذه الحالات يمكن لناتج
التخمير ان يتفاعل مع كاشف كيميائي معين لاعطاء ناتج ملون . فالا حمض الامينية
لا تكون ملونة بحد ذاتها الا انها تتفاعل مع النينهيدرين ninhydrin تحت
ظروف مناسبة لتكوين لون ارجواني يمكن قياسه باجهزة القياسات اللونية .

كما يمكن انجاز بعض التحليلات الطيفية لنواتج التخمير غير الملونة او
التي لا تتفاعل مع العوامل الكيميائية لاعطاء نواتج منظورة ، اذا كانت هذه
المركبات قادرة على الامتصاص او الفلورة عند تعريضها لاطوال موجات معينة من
الاشعة فوق البنفسجية في مدى طول موجي قدره 200—380 نانوميتر تقريبا .
وعليه فالمركبات المحتوية على روابط مزدوجة متبادلة conjugated double bonds
كثلك الموجودة في الحلقات الاروماتية ، تتمتع
دائما الاشعة فوق البنفسجية عند عدة اطوال موجية من طيف الاشعة فوق البنفسجية
وفي المقابل فان بعض المركبات كالايبوفلافين يشع وميضاً فلوريا عند أطوال موجية
معينة من الاشعة فوق البنفسجية . ويكون اساس التحليل مشابها لتقديرات الضوء
المنظور ، اذ يتم اختيار اطوال موجات فوق البنفسجية للسماح باقصى فلورة
(اثار) fluorescence او امتصاص للاشعة فوق البنفسجية بالنسبة لناتج
التخمير مع اقل نشاط ممكن للمركبات الملوثة ويحضر منحني قياسي بالطريقة التي
من ذكرها سابقا .

ان استخدام التحليل الطيفي في تقدير ناتج تخمير مجهول مسبقا يكون صعبا ،
وقد يرجع ذلك الى عدم تيسر المركب النقي لاستخدامه كمرجع قياسي في تحضير
المنحني القياسي . ولكن اذا كان ناتج التخمير ثابتا نسبيا فانه بالامكان اخذ نموذج

من سائل التخمر وتجفيفه او تجفيفه وحفظه للاستخدام كمرجع قياسي .

وإثناء اداء التحليل الطيفي قد يبرز تساؤل عن امكانية حدوث هدم لنتائج التخمر خلال التحليل ، أو تداخل الناتج مع المكونات الاخرى الموجودة في النموذج ، أو اضمحلال اللون المنظور أو الوميض وهلم جرا . وإذا كان هناك شيء من حدوث مثل هذه الظواهر فمن المستحسن ادخال مادة قياسية داخلية معلومة التركيز الى الى تخفيفات نموذج التخمر . وعليه يضاف مقدار بسيط ممكن كشفه من المركب الى تخفيف سائل التخمر المحتوي على ناتج التخمر المشابه له ، ويقارن هذا مع تخفيف آخر من سائل التخمر لايحتوي على المركب القياسي المضاف . وبطبيعة الحال ينبغي ان تختلف نتائج التقديرين في كمية المركب القياسي المضاف فقط . ويتم الكشف على اضمحلال الامتصاص في الضوء المنظور أو في الاشعة فوق البنفسجية أو في مستوى الفلورة فوق البنفسجية بانجاز التقديرات على فترات زمنية مختلفة بعد تحضير النموذج . ونتيجة لذلك يتم اختيار فترة زمنية معينة يمكن خلالها الحصول على نتائج صحيحة ومتكررة .

وبالامكان استخدام التحليل الطيفي للتعرف على وجود بعض المركبات غير المتوقعة في سائل التخمر . وينطبق هذا على المركبات التي تمتص الاشعة فوق البنفسجية ، اذ يتم اختيار نموذج مخفف من سائل التخمر في قدرته على امتصاص الاشعة فوق البنفسجية وعلى مدى واسع من اطوال الموجات . واذا تم ربط جهاز تسجيل بجهاز السبكتروفوميتر يتحصل على تحليل طيفي يبين ذروات امتصاص الاشعة فوق البنفسجية عند أطوال موجات معينة في حين تظهر أطوال موجات أخرى ذروات صغيرة أو معدومة . وهذه الذروات الكبيرة والصغيرة تكون مترافقة مع بعض الجاميع المعينة ضمن جزئية المركب وتعد سمة مميزة له . واذا اضيف حامض أو قاعدة الى نموذج التخمر فان ذلك يحدث تغيرا في مواقع هذه الذروات الكبيرة والصغيرة .

2 . 9 . طرق قياس العكارة Turbidimetry and Nephelometry

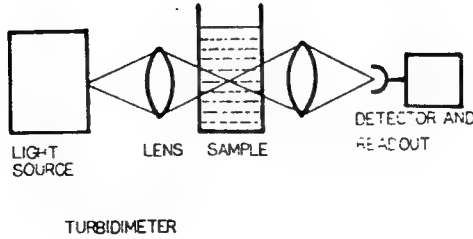
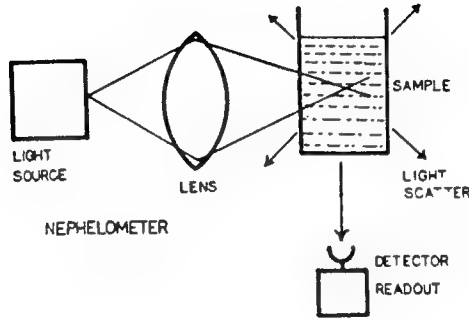
ان تقدير حجم الكتلة الخلوية يهيء طريقة بسيطة وسريعة للنتائج الغلوي اذا كانت الخلايا الميكروبية هي المكونات غير الدائبة الوحيدة في النموذج . اذ يتم

نيسية centrifugation بروتينات سائل التخمر مع خلاياه في أنابيب نيز مدرجة ويقاس حجم الخلايا المترسبة بالسنتيمترات المكعبة . الا ان هناك طريقة أخرى لقياس الناتج الخلوي من العملية التخمرية وهي طريقة قياس عكارة الوسط لمعرفة تركيز الخلايا وأية متخلفات أخرى غير ذائبة .

وتعتمد طريقة تقدير العكارة على قدرة الجسيمات العالقة في المحلول على تشتيت scatter أو امتصاص الضوء . فإذا مرت حزمة ضوئية خلال محلول به جيبات قابلة لتشتيت الضوء بشدة مقدارها (I_0) ، فإن (I_g) مثل شدة الأشعة المشتتة في انباز عمودي على اتجاه الشعاع الداخل . وإلى جانب ذلك يلاحظ في مثل هذه المحاليل ان جزءا من الأشعة الداخلة سوف يمر خلال المحلول بشدة مقدارها (I_1) وهذه هي النافذة خلال المحلول ، والتي تكون اقل في شدتها من شدة الضوء الساقط نظرا لعمليات الامتصاص والتشتت التي تجد للضوء نتيجة لوجود الجيبات الصلبة المعلقة . وعليه نجد ان الطرق التي تعني بدراسة شدة الضوء المشتت Scattered light أو (I_s) تسمى Nephelometry ، اما الطرق التي تعتمد على قياس شدة الضوء النافذ transmitted light أو (I_t) فتسمى Turbidimetry ، ويوضح الشكل (12 . 5) مقارنة بين نظامي الطريقتين .

وقد ثبت فعلا أن شدة الضوء المشتت تعد دالة تعبيرية طردية لعدد الجسيمات المنتشرة في الوسط اي على تركيز وسط التشتت ، ولن تتوقف شدة الضوء المشتت على عدد الجسيمات فقط بل تتأثر ايضا بواسطة حجم هذه الجسيمات . ويتضح من ذلك ان كلمة عكارة Turbidity تعزى للخواص الضوئية للمعلقات ويمكن اعتبارها نسبة الضوء المنعكس الى الضوء الساقط على المعلق وتعتمد شدة الضوء المنعكس بواسطة المعلق على التركيز عندما تكون جميع العوامل الاخرى ثابتة . وهذا يعد ذا فائدة كبيرة في حالات كثيرة عندما يتم تقدير راسب ما بدون فصله من المحلول وخاصة في الحالات التي يصعب فيها ترشيح وغسيل وتجفيف الراسب او عندما تكون سرعة التقدير مطلوبة . وتقع طريقة تقدير في ثلاث مجاميع : —

(1) مقارنة نسبة الضوء المنعكس او المشتت (scattered light) Tyndall light



الشكل (5.12) مقارنة بين النظام البصري في كل من الـ Nephelometer والـ Turbidimeter

مع الضوء الساقط .

(2) مقارنة نسبة الضوء النافذ transmitted light من المعلق مع الضوء

الساقط .

(3) قياس تأثير خبو (انقضاء) الضوء Extinction effect ، وهو طول المفق الذي يختفي عنده هدف تحت المعلق .

وتعد الطريقة الاولى المعتمدة على ظاهرة تندال Tyndall ratio من اكثر الطرق حساسية للتركيزات المنخفضة وتسمى اجهزة التياس الخاصة بها Tyndallmeters ، في حين الطريقة الثالثة المعتمدة على تأثير الخبو تستعمل

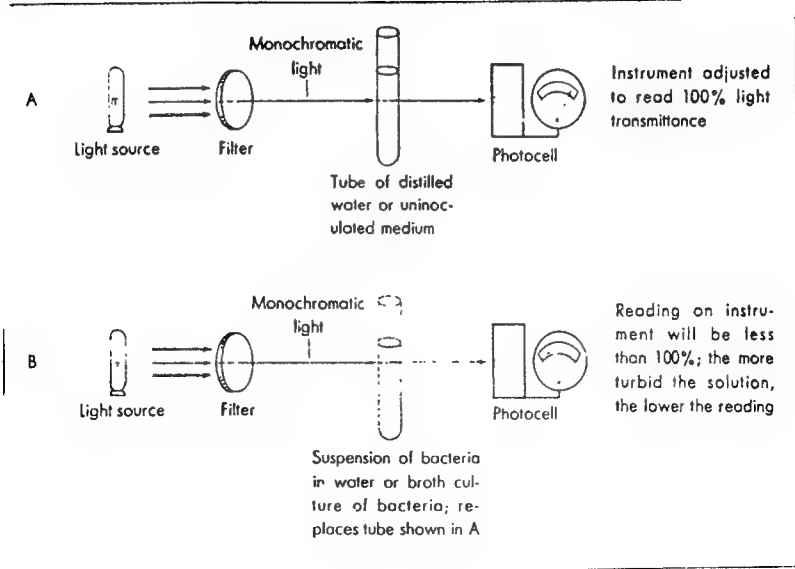
في حالة التراكيز العالية ، في حين تستخدم الطريقة الثانية في حالة التراكيز المتوسطة •

وتعد قياسات المكاره turbidity جيدة في حالة تشتت جزء مهم من الضوء الضوئية الساقطة على المحلول ، ولكن اذا حدث وتشتت جزء بسيط من الضوء الساقط فان قياسات nephelometry تعد الافضل • ويمكن استخدام اغلب اجهزة القياسات الضوء طيفية (السبكتروفوتوميتر) في قياس عكارة المحاليل كما هو الحال في التحكم بنمو الخميرة في بعض التخميرات •

وطريقة القياس هي باخذ مقدار من النمو الخلوي المعلق في بيئة النمو ويخفف الى مدى معين من المكاره يمكن بسهولة قياسه على شكل امتصاص ضوئي absorbance او كثافة ضوئية optical density في اي جهاز تحليل لوني او ضوء طيفي مع امكانية استخدام مرشح filter او موحد الضوء monochromator للافاء الالوان المساحبة لبيئة النمو كما هو موضح في الشكل (6.12) • وبالامكان مقارنة القراءة مع نموذج قياسي من بيئة غير ملقحة ولها نفس التخفيف لتعطي قراءة نفاذية ضوئية قدرها 100% ويمكن مطابقة قياسات المكاره لعدد الخلايا في البيئة مع بعض الطرق الاخرى مثل طريقة العدد بالاطباق plate count وذلك لتحديد العدد الكلي للخلايا في النموذج • وعليه يعمل منعنى قياس للملاقة بين الامتصاص الضوئي وعدد الخلايا باستخدام معلومات كل سلسلة من تخفيفات المعلق الخلوي • وبتحضير هذا المنحنى القياس يمكن بسهولة تحويل قراءة الكثافة الضوئية الى عدد الخلايا في النموذج •

2 . 10 . التحليل بالوميض (الفلورة) Fluorometry

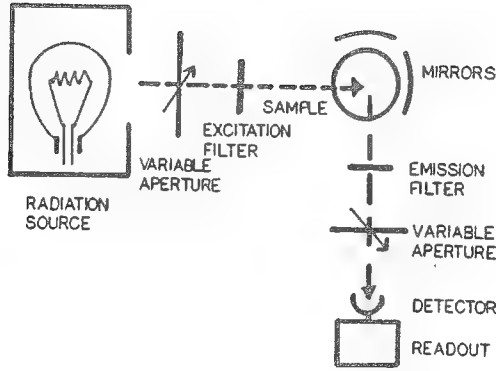
ان هذا التحليل هو قياس للضوء المنبعث من مركب سبق تشعيمه بضوء قصير الموجة • وعند تعرض العديد من المركبات الى الاشعة فوق البنفسجية العالية الطاقة فانها ستبعث اشعاعات ذات موجات أطول نتيجة لمودة الكترونات الجزيئة من حالتها المثارة الى حالة الهدوء • ويوضح الشكل (7.12) تركيب جهاز قياس الوميض fluorometer لغرض الاستخدام التحليلي الاعتيادي •



الشكل (6.12) رسم تخطيطي لجهاز تحليل لوني يقيس عكارة محلول التخمر

(حيث : A : تثبيت الجهاز لكي يصبح جاهزا للاستعمال

B : تقدير العكارة (او النمو) لمحلول التخمر)



الشكل (7.12) • رسم تخطيطي لجهاز قياس الوميض وحيد الحزمة الضوئية

ويجب أن يشع مصدر الاضاءة مقادير مهمة من الاشعة عند الاطوال الموجية التي تشير الجزيئة المعنية • ويعد اختيار المصابيح الفلورية ، ومصابيح ابتخرة الزئبق ، وانايبب الزينون متيسرا لتغطية المجالات المرغوبة • وتعمل المرشحات الاولى على منع أكبر قدر ممكن من الاشعاعات غير المرغوبة • وتصطدم الاشعة ذات الطول الموجي المرغوب بالمركب وتثير بعض الالكترونات الى مستوى باي π الاعلى طاقة • وتعود الجزيئة الى حالة الهمود مطلقا بروتونا من الطاقة المتصلة كفوتون ضوئي مميز (له طول موجي أطول بقليل من الطول الموجي القائم بالاثارة) • وتنطلق الفوتونات المنبعثة في جميع الاتجاهات • وعادة يتم اختيار زاوية الانبعاث الصحيحة بالنسبة للحزمة الضوئية الساقطة من أجل القياس • ويوضع المرشح الثانوي أو مرشح الغزل بين حامل النموذج والمكتشف لازالة الاشعة غير المرغوبة • ويمكن لبعض المركبات المتضمنة ان تمتص الاشعاعات الثانوية المنبعثة ، وهذا ما يطلق عليه بالتأثير القامع $quenching\ effect$ • وعادة تكون شدة الوميض (الفلورة) خطية للتغيرات في التركيزات الخفيفة للمواد الفلورية ويمكن كشف مستويات من بعض المواد تصل الى أقل من 10 مايكروغرام/لتر •

ويستخدم هذا النوع من التحليل في تقدير الجليسرول وبعض الفيتامينات في بيئة التخمر .

11.2. الاستخلاص Extraction

تعد عملية الاستخلاص من أكثر الطرق شيوعا لفصل وتنقية المواد . اذ قد تأخذ شكل استخلاص مادة صلبة باستخدام سائل أو استخلاص سائل بسائل آخر غير قابل للامتزاج به . وفي الحالة الاولى نجد ان درجة ذوبان المادة المراد استخلاصها في السائل المستخدم في الاستخلاص يعد عاملا اساسيا في تحديد مدى نجاح عملية الاستخلاص ، أما في حالة استخلاص سائل بسائل فان العامل المحدد للنجاح هو درجة الذوبان النسبية relative solubility للمذاب في كلا السائلين وهذه تعرف بمعامل الفصل partition coefficient (C_d) أو نسبة التوزيع distribution ratio .

$$C_d = \frac{S_1}{S_2}$$

حيث تعبر S_1 عن مقدار المذاب في السائل الاول و S_2 عن مقدار المذاب في السائل الثاني . ويمكن اجراء كلا العمليتين (استخلاص مادة صلبة بواسطة سائل أو استخلاص سائل بسائل اخر) اما بطريقة الوجبات batch-wise او بطريقة مستمرة continuous . وعليه يعبر عن الجزم المنقول من المادة في عملية استخلاص واحدة بالاتي : -

$$F = \frac{C_d V_2}{V_1 + C_d V_2}$$

حيث F = الجزم المنقول

C_d = معامل الفصل

V_1 = حجم المذيب الاصلي

V_2 = حجم المذيب انضاف

لذا فان استخدام عدة عمليات استخلاص عوضا عن عملية واحدة سيكون اكثر كفاءة . ويمكن استخلاص اكثر من مركب بنفس العجم من المذيب .

ان مبدأ الفصل هذا ، يستخدم في كروماتوجرافي السائل - السائل كما هو الحال في الكروماتوجرافي الورقي والكروماتوجرافي الغازي السائلي .

ويعتمد الاختلاف في ذائبية المذاب بين المذيبات بالدرجة الاساس على قطبية المذيبات • ويترج الجدول (12.1) بعض المذيبات الشائعة وخواصها المختلفة • كما ويمزى ثابت الحاجز الكهربائي الى قطبية المذيب •

2 . 12 التحليل الكروماتوجرافي Chromatography

كان لاكتشاف وتطور التحليل الكروماتوجرافي بأنواعه المختلفة تأثير كبير على أبحاث التخمر والتقية اذ جعلتهما يخطوان خطوات ومريمة • وقبل اكتشاف هذه الطريقة كان من الصعب الكشف والتعرف على الانواع العديدة من المنتجات التخمرية اضافة الى تقدير كمياتها وخاصة اذا كانت موجودة بمقادير صغيرة في بيئة التخمر • ومع ذلك فقد وفر التحليل الكروماتوجرافي الوسائل المناسبة للكشف عن المركبات في حالتها النقية وغير النقية ، وايضا تقدير هذه المركبات حتى وان وجدت بكميات ضئيلة جدا •

وبتقدم طرق الفصل تمكن الكثير من الباحثين من استخدام التحليل الكروماتوجرافي في ابحاثهم وخاصة تلك المتعلقة بالفيتامينات والانزيمات والبروتينات والدهون والاحماض ومركبات النكهة وغيرها • وقد غير التحليل الكروماتوجرافي من شكل المختبرات ومعدات ما كانت عليه منذ اكثر من سنة بل حتى ان الكثير من المصانع تستخدمه بوسيلة او باخرى في عمليات الانتاج المختلفة وفي مختبرات السيطرة النوعية •

والتحليل الكروماتوجرافي هي عملية فصل المخاليط الى مكوناتها في مناطق تركيز او في اوجه تختلف عن تلك التي كانت توجد فيها اصلا ، بفضل النظر عن طبيعة القوى المسببة في انتقال المكونات بين وجه وآخر • وعموما تقسم طرق التحليل الكروماتوجرافي تبعا للاساس العلمي الذي يتم به الفصل الى الاتي : -

1.12.2 التحليل الكروماتوجرافي بالامتزاز Adsorption Chromatography

تمد القوة المسنولة عن هذا التحليل القوة السطحية الطبيعية الخاصة بالامتزاز ، حيث يحدث اعادة توزيع المادة المتزعة بين السائل المذيب وسطح

الجدول (1.12)
بعض المذيبات الشائعة مع بعض من خواصها الفيزيائية

المذيب	الوزن الجزيئي	الكثافة عند 25 °م	معامل الانكسار	درجة الغليان ثابت الحاجز (العزل) الكهربائي (°م)	الكهربائي
الماء	18.02	0.9971	1.3329	100	78.54
الميثانول	32.04	0.7866	1.3265	64.7	37.50
أستونتريل	41.05	0.7766	1.3416	81.6	37.50
أستالدهيد	44.05	0.7780	1.3311	20.4	21.10
فورماميد	45.04	1.1334	1.4475	210.5	109.00
حامض الفورميك	46.03	1.2141	1.3694	100.6	58.50
الايثانول	46.07	0.7850	1.3554	78.3	24.55
الاستيرون	58.05	0.7900	1.3587	56.3	20.70
n- ميثيل فورماميد	59.07	0.9988	1.4300	182.5	182.40
حامض الخليك	60.05	1.0492	1.3719	117.9	6.15
1 — بروبانول	60.10	0.8038	1.3856	97.2	20.33
سايكلوبنتان	70.13	0.7454	1.4065	49.3	1.96
بنتان	72.15	0.6262	1.3579	36.1	0.0
خللات المثيل	74.08	0.9342	1.3614	56.3	6.68
1- بيوتانول	74.12	0.8060	1.3973	117.7	17.51
إيثر ثنائي الاثيل	74.12	0.7076	1.3495	34.5	4.34
ثنائي كبريتيد الكربون	76.14	1.2700	1.6319	46.2	2.64
البنزين	78.12	0.8737	1.4979	80.1	2.28
البيثدين	79.10	0.9782	1.5075	115.3	12.40
ثنائي كلورو ميثان	84.93	1.3148	1.4211	39.8	8.93
هكسان	86.16	0.6548	1.3744	68.7	1.89
خللات الاثيل	88.11	0.8946	1.3698	77.1	6.02
تولوين	92.14	0.8623	1.4941	110.6	2.38
كلوروفورم	119.38	1.4799	1.4429	61	4.81
رابع كلوريد الكربون	153.82	1.5844	1.4574	76.7	2.24

المسحوق الماص **adsorbent** . وقوى الامتزاز هذه غالبا ما تنتج عن تكوين روابط هيدروجينية وعن قوى فان دير فال **Van der Waals** . ويتم هذا النوع من التحليل في انبوبة أو عمود مملؤ بمادة قابلة لامتزاز المواد عليها ومن ثم يوضع خليط المواد (سائل التخمر) المراد فصلها على المادة المائلة للعمود ، ويسمح للمذيب بالمرور على المخلوط . وباختلاف مكونات المخلوط للامتزاز على سطح المادة الماصة المائلة للعمود ، يتم توزيع مكونات المخلوط بين وجهين أحدهما ثابت والآخر متحرك بحيث ان المكون الذي له ميل كبير للامتزاز يتم امتزازه أولا ويتركز في المنطقة العليا من العمود يليه المكون الذي يقل في درجة ميله للامتزاز على نفس المادة المسامية فيتركز في الطبقة التي تلي اسفل المنطقة الاولى وهكذا ، وبالتالي يمكن القول بأنه يتم فصل مكونات مخلوط سائل التخمر بشكل طبقات أو مناطق أو حزم كروماتوجرافية . وأخيرا يسمح للمناطق أو الحزم المنفصلة بالازاحة خارج العمود حيث يتم تجميعها كل على حدة . وأحيانا يتم دفع المادة الصلبة المائلة للعمود الى خارجه ثم تقطع كل منطقة على حدة واذابة المادة الممتازة بمذيب مناسب . لذلك ينبغي العناية باختيار المادة المائلة المناسبة تبعاً لنوع المواد المراد فصلها . ومن المواد المائلة هي تلك المبينة ادناه والمرتبة تنازليا تبعاً لقوتها الامتزازية :-

سليكات الألمنيوم < الفحم الحيواني < الألومينا المنشطة < الفلورسيل < السليكا جل < اوكسيد الكالسيوم < اوكسيد المغنيسيوم < التالك < النشا < مسحوق السكر .

كما ينبغي العناية باختيار المذيب المناسب للفصل أو خليط من المذيبات اذ تزداد درجة ذوبان المواد الممتازة المحبة للماء في المذيبات المختلفة تبعاً لدرجة قطبيتها ، ويمكن ترتيب المذيبات تصاعديا تبعاً لقطبيتها كالآتي : -

الاثير البترولي > البنزين > رابع كلوريد الكربون > ثالث كلوريد الايثيلين > كلوريد المثلثين > الكلورفورم > حامض الخليك > الاستيون > الكحول البروبيلي المادي > الكحول الميثيلي المادي > الماء > البيريدين .

2.12.2. التحليل الكروماتوجرافي بالفصل أو التجزيء Partition Chromatography

ويمزى فصل مكونات مخلوط ما بواسطة هذا النوع من التحليل الكروماتوجرافي الى اختلاف ميل هذه المكونات للذوبان في مذيبين غير قابلين للامتزاج مع بعضهما امتزاجا تاما . وفي هذه الحالة يبقى أحد المذيبين ساكنا أو لاصقا أو مفلقا لمادة حاملة مسامية خاملة ليس لها أي قدرة امتزازية ويسمى بالمذيب الساكن أو غير المتحرك immobile solvent بينما يسري المذيب الآخر خلال المادة المسامية ويسمى بالمذيب المتحرك mobile solvent . وكما ذكرنا فان العامل الفعال هنا هو الذوبان النسبي للمذاب بين سائلين غير قابلين للامتزاج وهذا ما يسمى بمعامل الفصل partition coefficient أو نسبة التوزيع distribution ratio ، أي :-

$$\text{معامل الفصل} = \frac{\text{تركيز المذاب في الوجه الثابت}}{\text{تركيز المذاب في الوجه المتحرك}}$$

وفي هذا النوع من التحليل الكروماتوجرافي يمر خليط المراد فصلها بمدة خطوات متكررة من الفصل في الوقت الذي يسري فيه المذيب المتحرك مارا بالمادة المسامية الحاملة ، وينشأ عن اختلاف المواد المذابة في التوزيع بين المذيب المتحرك والمذيب غير المتحرك ان يحدث تركيز أو حجز أو تراكم المواد التي لها القدرة أو الميل الأكبر نحو المذيب غير المتحرك (الوجه الثابت stationary phase) في حين المواد التي لها الميل الأكبر نحو المذيب المتحرك (الوجه المتحرك mobile phase) نجد ما تتحرك معه ، وعلى ذلك تختلف سرعة كل مادة من مكونات المخلوط انشام سريان المذيب المتحرك وتتفصل . حزم أو بقع متباعدة باتجاه سريان المذيب المتحرك .

ويمكن اجراء التحليل الكروماتوجرافي بالفصل باحدى طريقتين : الاولى باستخدام عمود يلام بمادة مألثة مناسبة غير قابلة لامتزاز المواد على سطحها ، اي ان هذا النوع من التحليل يشابه التحليل الكروماتوجرافي بالامتزاز على عمود

من ناحية أسلوب إجراء التحليل إلا أنه يختلف في الأساس العلمي بعدم اعتماده على القوة الامتزازية في فصل مكونات المخلوط . ومن المواد المألوفة للمسود : السليكا جل ومسحوق السليلوز والنشا والتربة الدياتومية وغيرها . كما يمكن استخدام نظام مكون من مذيب واحد او نظام مكون من خليط من المذيبات . وغالبا يمثل الماء المذيب غير المتحرك وتكون نسبته في معظم النظم بين 10 — 20% من المذيب المتحرك في حين تشكل النسبة الباقية وهي بين 80 — 90% المذيب المضوي او خليط المذيبات المضوية .

وكما ذكرنا فان الخطوات المتبعة في اعداد العمود الكروماتوجرافي وعملية الفصل والازاحة للمكونات المفصولة خارج العمود وغيرها من الخطوات تتشابه مع مثلتها في حالة التحليل الكروماتوجرافي بالامتزاز ، ولكن في الغالب لا تترك الحزم او المناطق المنفصلة في العمود الكروماتوجرافي بل يتم غسيلها بالطريقة المناسبة لازاحة او استرداد elution كل طبقة وبالتالي يتحصل على مستخلصات جزئية يحتوي كل منها على احدى المواد المراد فصلها ويستخدم لذلك جهاز جامع الاجزاء fraction collector . وتتوقف ازاحة المكونات على الوقت وحجم المحلول ووزنه وعدد القطرات المنسكبة من العمود الكروماتوجرافي .

اما الطريقة الثانية فهي التحليل الكروماتوجرافي بالفصل او التجزيء على الورق paper partition chromatography ، وفي هذا النوع من التحليل تمثل ورقة الترشيح السليلوزية المادة الحاملة المسامية . وفي كلتا الحالتين يطلق على المادة الحاملة المسامية والمذيب غير المتحرك اسم الوجه الثابت او غير المتحرك في حين يطلق على الجزء الاخر من المذيب والمحتوي على المواد المراد فصلها اسم الوجه المتحرك . ويتم وضع قطرة صغيرة من مخلوط المواد (سائل التحضر) المراد فصلها على ورقة الترشيح قريبة من احد اطرافها ويسمح لنظام المذيب بالمرور خلالها والانتشار عليها (حيث تكون ورقة الترشيح نفسها مشبعة ببخار الماء) . فيحدث توزيع المكونات المخلوط بين الوجهين كل حسب معامل فصلها او توزيعها (بين الماء الموجود على الورق وبين المذيب المشبع بالماء) . ونتيجة لهذا التوزيع تنفصل مكونات المخلوط عن بعضها وعلى مسافات مختلفة تبعا لسرعة

سريانها مع المذيب المتحرك . وبعد انتهاء التحليل يتم التعرف على المكونات المنفصلة في بقع اذا كانت ملونة أو يتم رشها بكاشف ~~مكاشف~~ ^{مكاشف} لتلوينها ويمكن الاستدلال عليها من حساب قيم R_f لها أو بأية وسيلة أخرى .

قيمة R_f -value (اي Relative front) هي عامل حسابي يستخدم للمقارنة بين المواد المنفصلة ويأخذ قيمة ثابتة للمادة عند استخدام نفس النظام من المذيبات ، وهذه القيمة تمثل العلاقة بين مسافة الهجرة للمادة المراد فصلها على ورق الترشيح وبين مسافة الهجرة للمذيب من نفس نقطة الابتداء اي : -

$$R_f = \frac{\text{المسافة التي بلقتها المادة من نقطة الابتداء}}{\text{المسافة التي بلتها المذيب من نقطة الابتداء}}$$

ولما كانت سرعة انتشار أو سريان المذيب أكبر من سرعة انتشار أو سريان المادة المفصلة ، فإن قيمة R_f تتميز بكونها دائماً كسراً حقيقياً الا في حالات نادرة جداً قد تساوي الواحد الصحيح . ان مدة التحليل وبالتالي قيم R_f المتحصل عليها تختلف حسب نوع الورق المستعمل ونظام المذيب المستخدم ودرجة حرارة التحليل وتركيز محلول مخلوط المكونات المجهولة والاس الهيدروجيني ونسوع التحليل الكروموتوجرافي الورقي ، الا انها تعد قيمة مميزة لكل مادة يراد فصلها ولا تتغير بتغيير طول ورقة الترشيح .

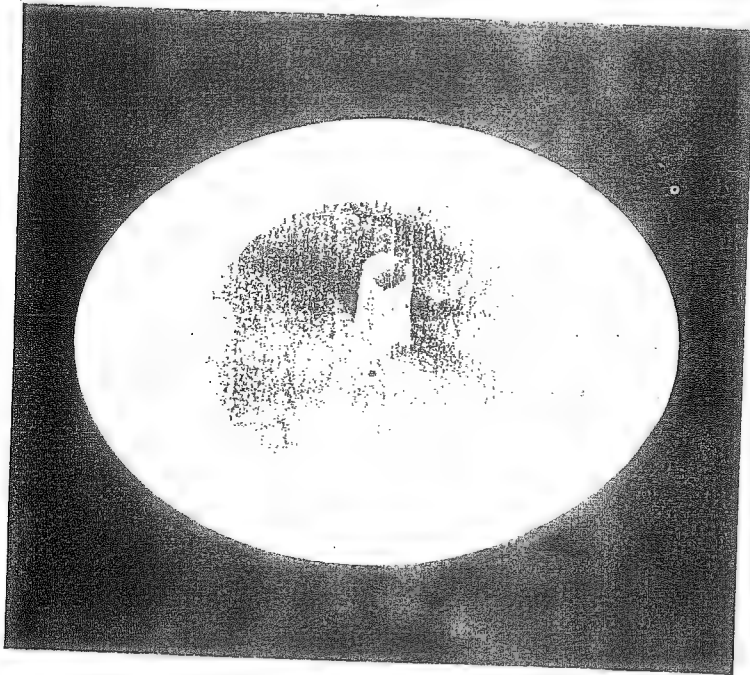
وهناك طرق عديدة للتحليل الكروموتوجرافي الورقي ، يتوقف اختيار احداها على نوع المركبات المراد فصلها وسهولة اجراء التحليل واخيراً التفضيل الشخصي للقائم بالتحليل . وسنذكر فيما يلي بعضاً من هذه الطرق يشيء من الايجاز ويمكن للقاريء ان يمود الى المراجع المتخصصة لمزيد من التفاصيل .

١ - التحليل الكروموتوجرافي الورقي الدائري Circular-paper chromatography :

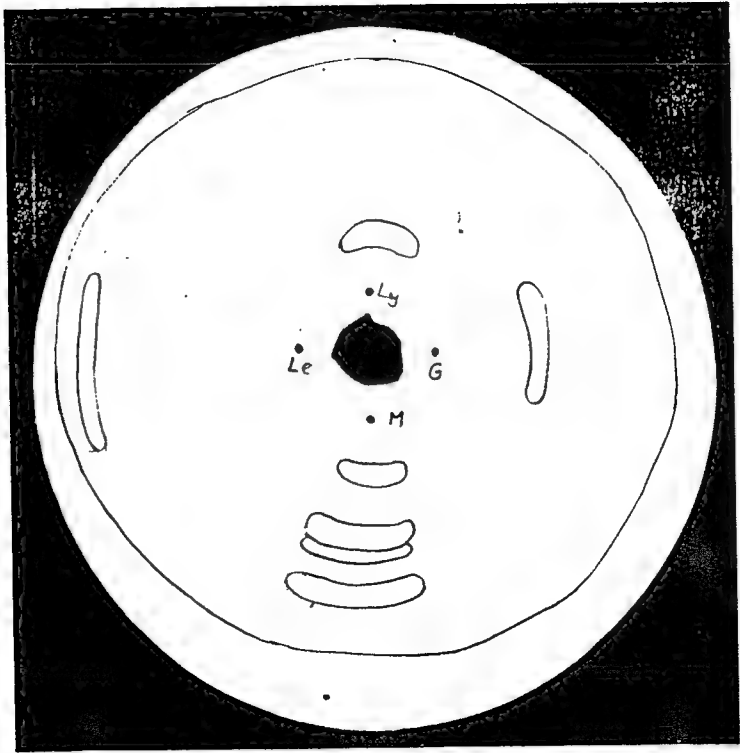
في هذه الطريقة تستخدم ورقة ترشيح دائرية تثقب من الوسط ويوضع فيها Wick حمودها على مستوى ورقة الترشيح . وعند اتصال ورقة الترشيح بالفعل توضع قطرة من المخلوط المجهول على الورقة قرب الفتييل ومن ثم ينمس

الاحين في طبق بقرى يحتوي على المذيب المتحرك ليسري خلال ورقة الترشيح عن طريق الفتيل ونتيجة لذلك تنفصل مكونات الخليط على شكل بقع دائرية كل حسب معامل توزيعه بين الوجهين الثابت والمتحرك ، كما هو مبين في الشكل

(8 . 12) والشكل (9 . 12)



الشكل (8 . 12) التليل الكروماتوجرافي الورقي الدائري

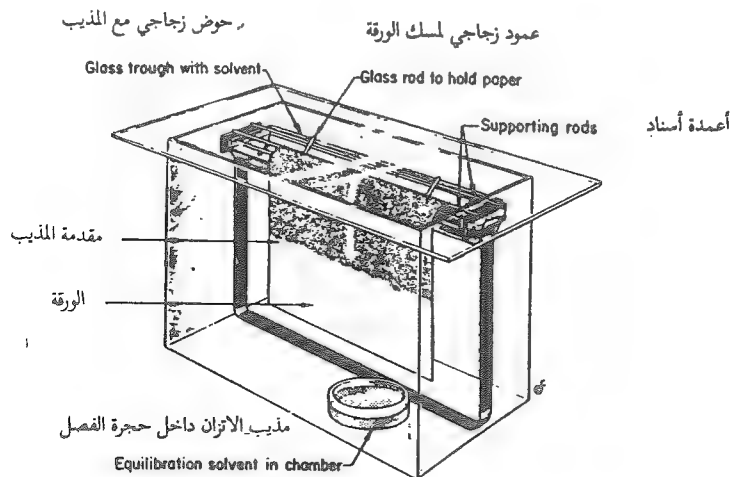


الشكل (12 . 9) كروماتوجرام لاهماض امينية مفصولة بواسطة
التحليل الكروماتوجرافي الورقي الدائري بعد رشها
بمحلول النينهيدرين

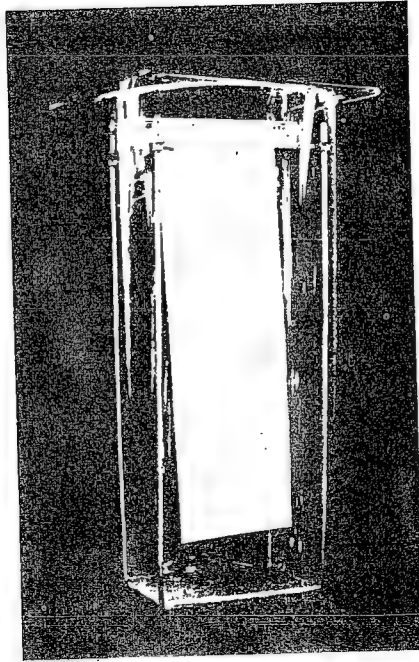
ب - التحليل الكروماتوجرافي الورقي بالطريقة النازلة
: Descending paper chromatography

في هذه الطريقة تهاجر مكونات المخلوط المراد فصلها بسرعات مختلفة مع
سريان المذيب المتحرك خلال شريط او صحيفة ورق الترشيح من اعلى الى اسفل
باتجاه الجاذبية الارضية وبذلك تصبح مكونات المخلوط على ابعاد مختلفة - وتمتاز

هذه الطريقة بسرعة الاجرام لكون سريان المذيب مع اتجاه الجاذبية الارضية وبذلك
 ممكن الحصول على اوضح لمكونات المخلوط . اذ يكون طرف ورقة
 كروماتوجرام الملوي مغمورا في حوض المذيب في حين يتدلى جسم الورقة الى
 لاسفل ، وكما هو مبين في الشكل (10 . 12) والشكل (11 . 12)



الشكل (10 . 12) التحليل الكروماتوجرافي الورقي بالطريقة النازلة



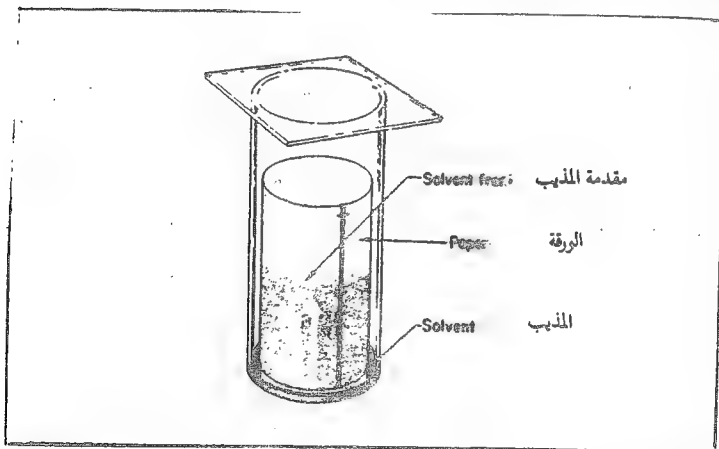
الشكل (12 . 11) الفصل الكروماتوجرافي الورقي بالطريقة النازلة

ج - التحليل الكروماتوجرافي الورقي بالطريقة الصاعدة

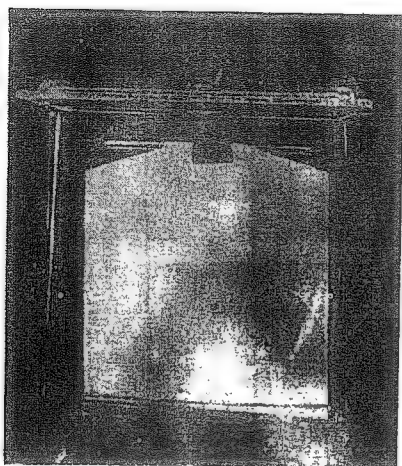
: Ascending paper chromatography

وفي هذه الطريقة تهاجر مكونات المخلوط المراد فصلها مع مسرمان المذيب المتحرك خلال ورقة الترشيح من أسفل الى أعلى باتجاه مماكن الجاذبية الأرضية .
اذ يوضع المذيب الصاعد في قاع حجرة الفصل الكروماتوجرافي وتعلق ورقة الترشيح من أعلى بمشابك بحيث يكون طرفها القريب من مكان وضع المخلوط المجهول مغمورا بالمذيب . وأحيانا قد تلف ورقة الترشيح على هيئة اسطوانة ويتم تثبيت ذلك بواسطة دبائيس من الصلب غير القابل للصدأ او من البلاستيك ومن ثم يغمس طرف الاسطوانة القريب من مكان وضع المخلوط في المذيب الصاعد . وتمتاز هذه الطريقة بالسهولة الا انها تستغرق وقتا طويلا فضلا عن ان فصل بعض المخاليط لا يكون جيدا

داخل بقع المكونات المنفصلة على الكروماتوجرام بعضها ببعض و كما هو موضح
في الشكل (12 . 12) والشكل (13 . 12) .



الشكل (12 . 12) التحليل الكروماتوجرافي الورقي بالطريقة الصاعدة
(الورقة ملفوفة على هيئة اسطوانة)

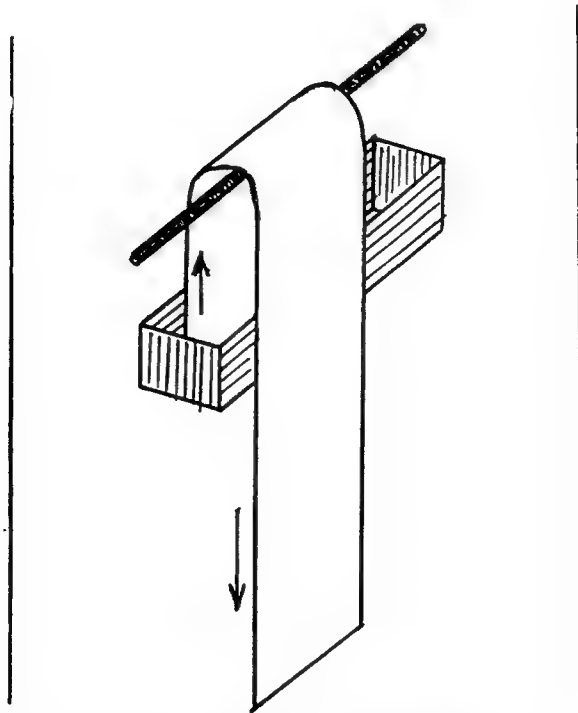


الشكل (13 . 12) التحليل الكروماتوجرافي الورقي بالطريقة الصاعدة
(الورقة على هيئة منبسطة)

د - التحليل الكروماتوجرافي بالطريقة الصاعدة النازلة

Ascending-descending paper chromatography

وهذه الطريقة تجمع بين مميزات الطريقة الصاعدة والنازلة ، اذ تملق ورقة الترشيح على ساق زجاجية بحيث يتدلى طرفاها من الجانبين كما هو موضح في الشكل (12 . 14) ويغمس طرف الورقة المتدلي والقريب من مكان وضع المخلوط في حوض المذيب الصاعد ويسمح له بالسريان عكس اتجاه الجاذبية الارضية ساجبا معه مكونات المخلوط بسرعات متقارنة وعند الوصول الى الساق الزجاجية يتحول سريان المذيب ليصبح باتجاه الجاذبية الارضية (اي من اعلى الى اسفل) حتى نهاية التحليل .

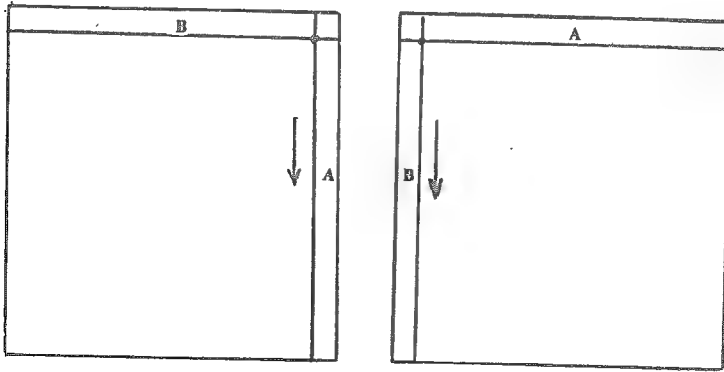


الشكل (12 . 14) رسم تخطيطي لاسلوب التحليل الكروماتوجرافي الورقي بالطريقة الصاعدة النازلة .

هـ - التحليل الكروماتوجرافي الورقي ذو الاتجاهين

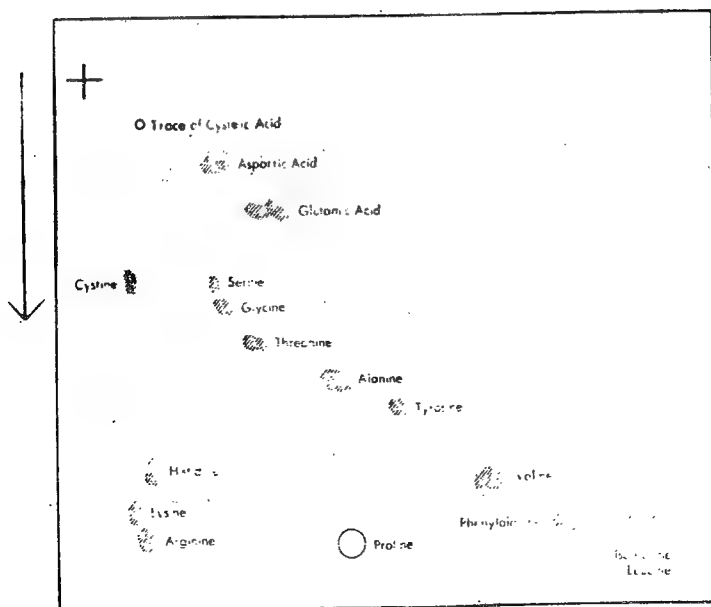
: Two-dimensional paper chromatography

وفي هذه الطريقة يتم الفصل الكروماتوجرافي باتجاهين متعامدين على نفس ورقة الترشيح وبنفس قطرة المخلوط المراد فصل مكوناته . وتستخدم هذه الطريقة للحصول على فصل واضح وادق لمكونات المخلوط (سائل التخمر) والتي لا يمكن فصلها بهذه الدرجة من الدقة عند اتباع الطرق السابقة .



وتجهز ورقة الفصل الكروماتوجرافي برسم خطين للابتداء base line متعامدين مع بعضهما وتوضع قطرة المخلوط في مركز تقاطع الخطين المتعامدين . ويجري التحليل باحدى الطريقتين السابقتين الصاعدة او النازلة . وبعد انتهاء التحليل وجفاف الورقة تدار بزاوية مقدارها 90° اي تصبح بوضع متعامد مع الوضع السابق ويماد اجراء التحليل بنفس طريقة اجرائه في الوضع السابق . وقد يستخدم نفس نظام المذيب في كلا التحليلين ، او يستخدم نظام مذيب في التحليل الاول ومن ثم يستبدل بنظام مذيب اخر في التحليل الثاني . وفي كلا التحليلين يحدث فصل أو تجزئ أو توزيع لمكونات المخلوط (سائل التخمر) ، حيث تصطف المكونات طوليا بعد انتهاء التحليل الاول في حين تنتشر على جميع

انحاء ورقة الترشيح (الكروماتوجرام) بعد انتهاء التحليل الثاني ، وكما هو
موضح في الشكل (12 . 15) •



الشكل (12 . 15) كروماتوجرام للتحليل الكروماتوجرافي في الورقي ذو الاتجاهين
(فصل مخلوط لسبعة عشر حامضاً أمينياً)

و - التحليل الكروماتوجرافي الورقي ذو الاتجاه الواحد والمتعدد الاظهار او

التحريض

Unidimensional multiple development paper chromatography : —

وفي هذه الطريقة يتم الفصل الكروماتوجرافي باتجاه واحد ولكن بعدد اكبر من عمليات الاظهار او التحريض ، حيث تغطي الفرصة لمكونات المخلوط المراد فصلها للحركة مع المذيب لمسافات طويلة . اطول من المسافة التي يتحركها المذيب في حالة الاظهار الواحد . ونتيجة لذلك يتم الحصول على فصل دقيق وواضح لمكونات المخلوط مقارنة بحالة الاظهار الواحد . ويمكن اجراء التحليل بأي من الطريقتين الصاعدة او النازلة ولكن في اكثر الاحيان تفضل الطريقة النازلة لانها اسرع وتسمح بتكرار عملية الاظهار لكثر من مرة . ويتبع في اجراء هذا التحليل نفس الخطوات المتبعة في الطريقة النازلة ويمكن تلخيصها في الآتي :-

(1) يرسم خط الابتداء Base line وخط الوصول او الانتهاء Solvent front

على ورقة الترشيح ومن ثم تقطع ورقة الترشيح على هيئة متعرجة (زكراك)

وعلى مسافة 2—3 سم من خط الانتهاء وذلك لتنظيم تساقط المذيب المتحرك

النازل بسهولة وبصورة عمودية .

(2) توضع قطرة من دليل ملون بحيث تكون هجرتها خلال التحليل اسرع قليلا من

من معرفة حركة اسرع مكون في المخلوط المراد فصل مكوناته وذلك لتلافي

فقد هذا المكون خلال التحليل .

(3) يجري الاظهار ويصل المذيب المتحرك الى خط الانتهاء ويسمح له بالتساقط

من طرف الورقة لفاية ان تصل بقعة الدليل اللوني الى مسافة 10 سم من

خط الانتهاء .

(4) يرفع الكروماتوجرام ويجفف ويعاد الاظهار من جديد ، وتستمر العملية

لعدة مرات حتى تصل بقعة الدليل اللوني الى خط الانتهاء ، وعندما يرفع

الكروماتوجرام ويجفف ويجهز لعملية التعرف على المكونات المنفصلة .

ز - التحليل الكروماتوجرافي الورقي بالطريقة المعكوسة (المقلوبة)

Reversed-Inversed paper chromatography : —

يمكن استخدام أي من طرق التحليل الكروماتوجرافي السابق وصفها لتحقيق

الفصل الكروماتوجرافي باستخدام مذيب عضوي (أو مخلوط) مشبع بالماء . الا

أنه وجد في حالة المركبات القابلة للذوبان في الماء أن وجود الماء في مخلوط المذيبات لا يحقق الفصل الكروماتوجرافي الجيد ولذلك لا بد من معاملة الورقة بما يغير من خاصيتها القطبية . ويتم ذلك بتندية ورقة الترشيح بواسطة الفازلين أو البارافين أو السليكون أو المطاط ، وبذلك تصبح خاصيتها التطبيقية أقل ، وبالتالي يصبح كالكحول البيوتيلي المادي هو الوجه غير المتحرك في حين يصبح المذيب القطبي كاللأم هو الوجه المتحرك . ومن هنا جاءت هذه التسمية « الطريقة المعكوسة » إذ أمكن بواسطتها فصل مكونات مخاليط عدد من المواد غير القابلة للذوبان في الماء .

وبنفس النظر عن الطريقة المتبعة في التحليل الكروماتوجرافي ، فإنه عادة يتم التعرف على البقع المنفصلة كما يلي :-

(أ) إذا كانت البقع ملونة ، فعند ذاك يسهل رؤيتها والتعرف على مكانها على الكروماتوجرام .

(ب) وإذا كانت البقع غير ملونة ، فيستلزم الأمر معاملتها بطرق مختلفة مناسبة كما يلي :-

(1) يغمس الكروماتوجرام في محاليل مناسبة بشرط عدم ذوبان مكونات البقعة المنفصلة في المحلول الكاشف . وبعد ذلك يرفع الكروماتوجرام ويجفف لكي تظهر بقع المواد المنفصلة .

(2) غالباً ما يلجأ إلى رش الكروماتوجرام لإظهار البقع بعد انفصالها وذلك بواسطة رشاشات صغيرة (المجزي Atomizer) .

(3) ويلجأ أحياناً إلى تعريض الكروماتوجرام إلى الأشعة فوق البنفسجية ، أو قد يعامل الكروماتوجرام قبل التعريض للأشعة بمحاليل معينة من شأنها أن تظهر المواد المختبرة بالوان مميزة تحت الأشعة فوق البنفسجية .

(4) يمكن تعريض الكروماتوجرام المحتوي على البقع المنفصلة إلى جهاز التحليل البولاروجرافي (الاستقطاب الكهربائي) وذلك في حالة المواد التي تبدي استجابة لهذا النوع من التحليل .

(5) إذا كانت المواد المنفصلة على الكروماتوجرام ذات نشاط إشعاعي فمن الممكن التعرف عليها بعدة وسائل لقياس هذا النشاط الإشعاعي .

(6) ويمكن وضع الكروماتوجرام المحتوي على مواد منفصلة نشطة بايولوجيا كالمضادات الحيوية لفترة قصيرة على سطح طبق بتري يحتوي على آجار غير ملقح . وبعد فترة ستنشر المادة النشطة من مكان وجودها على الكروماتوجرام الى الاجار الذي تحتها ومن ثم يرفع الكروماتوجرام ويحضر الطبق ، ويمكن اجراء الفحص البايولوجي لهذه المادة المنفصلة مثل كونها مثبطة لنمو احياء مجهرية معينة .

(7) تضارن قيم R_f للبقع المنفصلة بنظيراتها القياسية من المادة النقية التي توضع على نفس الكروماتوجرام وتفصل مع المكونات المجهولة للمخلوط تحت نفس الظروف التحليلية . فاذا اظهرت نواتج التخمر والمركبات القياسية النقية قيم R_f متماثلة فهذا يعني أن كليهما مادة كيميائية واحدة .

والمواد المنفصلة كروماتوجرافيا والتي تم التعرف عليها وصفيًا يمكن تقديرها كميًا بمدد من الطرق وذلك بعد استردادها من على الكروماتوجرام واذايتها في محاليل مناسبة تساعد في الكشف عن خاصية معينة . اذ يمكن تقدير المواد المنفصلة لونيًا في مدى الضوء المنظور ومقارنتها بعينة قياسية معروفة التركيز أو التقدير المرتبط بخاصية كهربائية معينة مثل فرق الجهد ومقارنتها بعينة قياسية ، أو بطرق عديدة أخرى قد تكون بعيدة عن هدف هذا الكتاب .

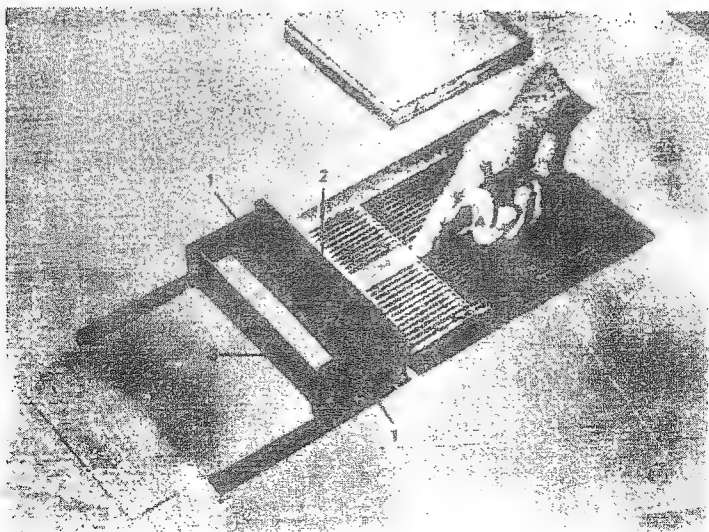
3.12.2. التحليل الكروماتوجرافي بالطبقة الرقيقة Thin-Layer Chromatography

تعد طريقة التحليل بالطبقة الرقيقة إحدى الطرق المستحدثة وتقع حساسيتها بين طرق التحليل الكروماتوجرافي الورقي وطرق التحليل الكروماتوجرافي الغازي . ويتشابه هذا النوع من التحليل مع التحليل الكروماتوجرافي الورقي بأنه يستخدم في التحليل الوصفي والتقدير الكمي لمخاليط المواد المراد فصلها ولكنه يتميز عنه بكونه يعطي فصلا واضحا لكميات ضئيلة جدا من النموذج وكذلك يستغرق وقتا قصيرا وخطوات قليلة ، كما انه يستبدل الورق بطبقة رقيقة من مادة حسامية محمولة على لوح زجاجي .

ان القوى المسؤولة من الفصل في هذا النوع من التحليل الكهرو-اتوجرافي هي القوى الخاصة بالامتزاز على السطح الصلب . ويتم هذا التحليل على شرائح أو ألواح من الزجاج تكتسى بطبقة من المادة المسامية الصلبة . ومن المواد الامتزازية الشائعة الاستخدام السليكا جل وأوكسيد الألمنيوم (الألومينا) أو أي مادة أخرى . ويخلط مادة مع كل منهما مادة رابطة Bining agent مثل كبريتات الكالسيوم و V_2O_5 (الجيس) أو النشا إذ تضيف الى المادة الماصة قوة وتغطي اللوح الزجاجي ثباتا ميكانيكيا . وقد يكون للمادة الماصة adsorbent وميض فلوري وعليه فان البقع المنفصلة تظهر سوداء اللون بالنسبة للخلفية الفلورية للوح الزجاجي عندما يعرض للأشعة فوق البنفسجية . وفي بعض الأحيان يمكن أن يصبح نظام السليكا جل معتمدا على اساس الفصل partition وليس الامتزاز وخاصة اذا كان مستوى قطبية نظام المذيب عاليا .

وفي تحضير اللوح الزجاجي تعمل عجينة من المادة الماصة مع الماء ثم تصب في جهاز خاص يستطيع عمل فيلم (غشاء) رقيق من المادة الصلبة على سطح اللوح الزجاج . ونسبك معين (وعادة بين 300 — 500 مايكروميتر) كما هو موضح في الشكل (16.12) . وبعد ذلك تجفف الألواح في فرن على درجة حرارة 216 م لمدة ساعة واحدة وذلك لتنشيط المادة الجاملة (أو بمعنى آخر لإزالة معظم الماء منها) . وعندما يراد فصل المركبات غير القطبية ، تعامل المذيبات ماملة خاصة كي تكون خالية من الماء وبالتالي فان عملية تنشيط السليكا جل تجرى على درجات حرارة أعلى (حوالي 150 م لمدة 3 ساعات) بعد ذلك تكون الألواح جاهزة لعملية التحليل الكروماتوجرافي .

وقد يجري تركيز لمحلول النموذج التخمرى قبل وضعه على اللوح بحيث يمكن وضع أكبر تركيز منه في أقل حجم ممكن من اللوح ، وتستخدم لهذا الغرض ماصة دقيقة كما يتم وضع قطرة من المادة أو المواد القياسية النقية لتكون بمثابة مرشد من المكونات المنفصلة في النموذج المجهول . ويتوقف نجاح العملية على اختيار المذيب المناسب للفصل ، إذ تتوقف عملية الفصل نفسها على الاختبارات الخاصة بالقطبية النسبية للمركبات المراد فصلها إضافة الى الاعتبارات الخاصة بدرجة القطبية المطلوب توفرها في نظام المذيب لأمطائه الحركة المناسبة لعملية الفصل .



الشكل (16.12) جهاز بسط عجينة المادة الماصة على الاواح

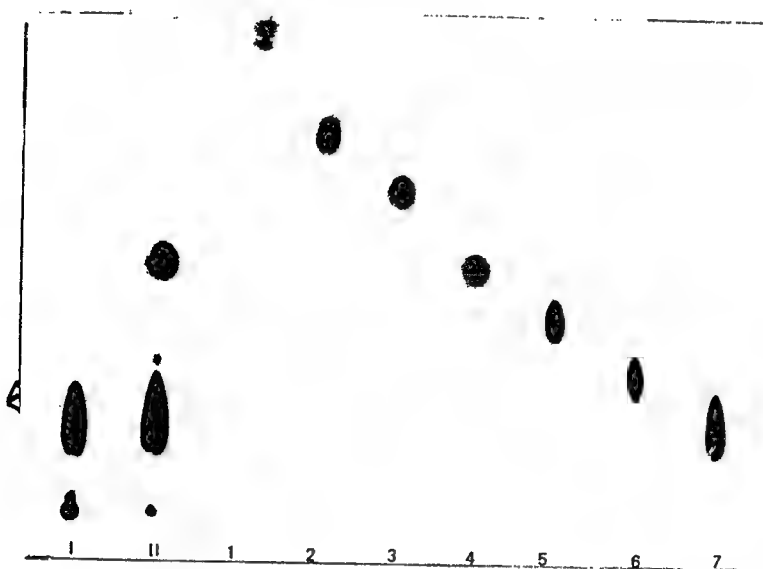
الزجاجية لعمل طبقة رقيقة (TLC—Applicator)

(حيث : 1 = الجدران الجانبية ، 2 = باب الدخول 3 = باب الخروج)

وعادة ما تجري عملية الفصل الكروماتوجرافي على اللوح بالطريقة الصاعدة . وبعد انتهاء التحليل يحدد خط الانتهاء وتجفف الاواح ليتم التعرف على البقع المنفصلة . فاذا كانت البقع ملونة او ذات وميض فلوري فانه يسهل التعرف عليها . اما اذا كانت غير ملونة فيمكن معاملتها باحدى الكواشف المناسب لاثهار البقع بصورة واضحة ومن ثم يمكن معرفة قيم R_f لمكونات الخليط المجهول ومقارنتها

يقوم R_f للمركبات القياسية النقية كما سبق ذكره في حالة التحليل الكروماتوجرافي الورقي ، الشكل (12 . 17) .

وحال التعرف على البقع المنفصلة تظهر عدة اختيارات للتقدير الكمي منها :
ازالة البقعة scraping off من على المادة الحاملة واستردادها بمذيب مناسب
ويعقب ذلك تقديرها بطريقة التحليل اللوني او التحليل الطيفي او باية وسيلة
تحليله أخرى ، أو يمكن قياس شدة البقعة بواسطة جهاز مسح ضوئي
photometric scanner سواء كان ذلك للبقع المرئية او المتغلورة (المنيرة) .



الشكل (12 . 17) كروماتوجرام التحليل الكروماتوجرافي بالطبقة الرقيقة TLC

بعد عملية الكشف عن المكونات المفصولة باستخدام احد المحاليل الكاشفة .
(الكروماتوجرام لنماذج من الليبيدات المتعادلة حيث : I , II = نماذج مجهولة
مجهولة يراد التعرف على مكوناتها ، 1 — 7 = نماذج قياسية نقية من الليبيدات)

2 . 12 . 4 التحليل الكروماتوجرافي الغازي Gas chromatography

تمتد طريقة التحليل الكروماتوجرافي الغازي من احدث وسائل التحليل التي يتم بها التعرف على مكونات المخاليط وتقدير كميات متناهية في الصغر من هذه المكونات ، وتزيد حساسية هذه الطريقة والتي تكون بحدود 1×10^{-12} غرام بزيادة الاهتمام بتحسين الامعدة الكروماتوجرافية وايجاد مكتشفات Detectors حساسة .

ويمكن ان يحدث التحليل الكروماتوجرافي الغازي بطريقتين : -

الاولى - ويكون التحليل فيها بين وجهين احدهما ثابت وهو الوجه السائل المخلف لمادة صلبة والاخر هو الوجه المتحرك وهذا عبارة عن غاز خامل ويسمى التحليل في هذه الحالة بالتحليل الكروماتوجرافي الغاز - السائل (Gas Liquid Chromatography (GLC او يسمى بالتحليل الكروماتوجرافي الغازي التجزيئي Gas Liquid Partition Chromatography نتيجة لاستخدام السائل كوجه انتشار (وجه ثابت) .

الثانية - ويكون التحليل بين وجهين احدهما ثابت وهو المادة الصلبة المألثة للمود الكروماتوجرافي والاخر الوجه المتحرك وهو الغاز الخامل ويسمى التحليل في هذه الحالة بالتحليل الكروماتوجرافي الغاز - الصلب (Gas Solid Chromatography (GSC او يسمى بالتحليل الكروماتوجرافي الغازي الامتزازي Gas Adsorption Chromatography نتيجة لاستخدام المادة الصلبة كوجه انتشار (وجه ثابت) .

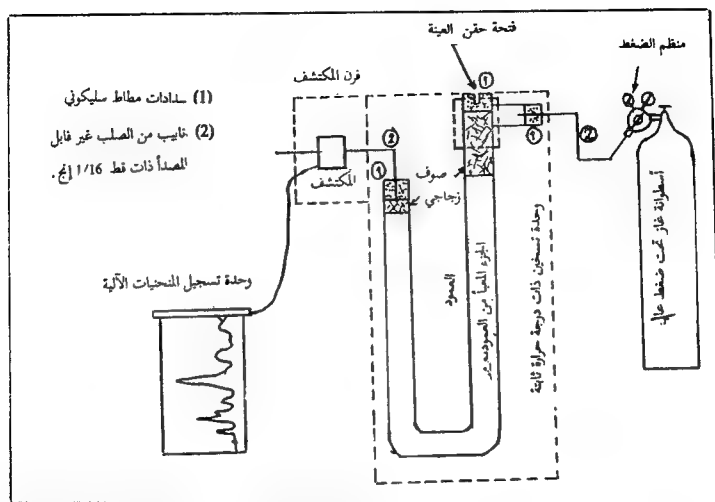
ويعد التحليل الكروماتوجرافي الغاز - السائل التجزيئي GLC الاكثر شيوعا . وان الوجه المتحرك هو الغاز في حين ان الوجه الناصر (الثابت) عبارة عن سائل غير متطاير يلف مادة صلبة خاملة . ويتم اظهار او تعويض الكروماتوجرام بطريقة الازاحة Displacement ، حيث يتم فصل مكونات النموذج حسب ملامات توزيعها بين الوجهين ، وكل مكون يهاجر خلال العمود بمعدل يعتمد على التفاوت في درجة تطايره وكذلك على مدى ارتباطه بالوجه السائل (الثابت) . ويتم تبخير مكونات المخلوطة المراد فصلها بحيث يكون لكل مكون منها سرعة مختلفة في اعادة ظهورها مرة اخرى على صورة ابخرة تحمل مع

تيار الغاز المتحرك باستمرار ، اي انه يمكن استخدام الوجه السائل وطول العمود المناسبين في فصل ابخرة المخلوط الى مكوناتها بحيث يحمل تيار الغاز المتحرك ابخرة كل مكون بمفرده الى المكتشف الالكتروني الذي يتم به التسجيل الكمي للكميات التي تصله من كل مكون حسب خصائص جزئياته . وتصمم المكتشفات الالكترونية Detectors على أسس من صفات معينة مثل الكثافة والتوصيل الحراري وحرارة الاحتراق والتأين وغير ذلك من الخواص التي تتأثر بوجود المادة التي يتم تقديرها ونتيجة هذا التأثير تتغير هذه الخاصية فيقوم المسجل Recorder بتسجيلها .

وتتألف معظم اجهزة التحليل الكروماتوجرافي الغاز - السائل من ستة اجزاء رئيسية هي :-

- 1 . منظومة الضغط ووحدة قياس معدل سريان الغاز Pressure Regulator & Gas Flowmeter
- 2 . نظام حقن العينة Sample Injection System
- 3 . عمود الفصل Separation Column
- 4 . وحدة التسخين Thermal Unit
- 5 . منظومة الاستجابة (المكتشف) Detection System
- 6 . وحدة تسجيل النتائج (المسجل) Recorder

يوضح الشكل (18.12) رسماً تخطيطياً لجهاز من هذا النوع .



الشكل (18.12) رسم تخطيطي لجهاز التحليل الكروماتوجرافي الغازي .

رئيساً يلي خطوات اجراء التحليل باختصار : -

(1) تجري تجارب اولية لمعرفة النظام الحراري المناسب للتحليل ومعدل مسريان الغاز واخيراً الضغط المناسب له .

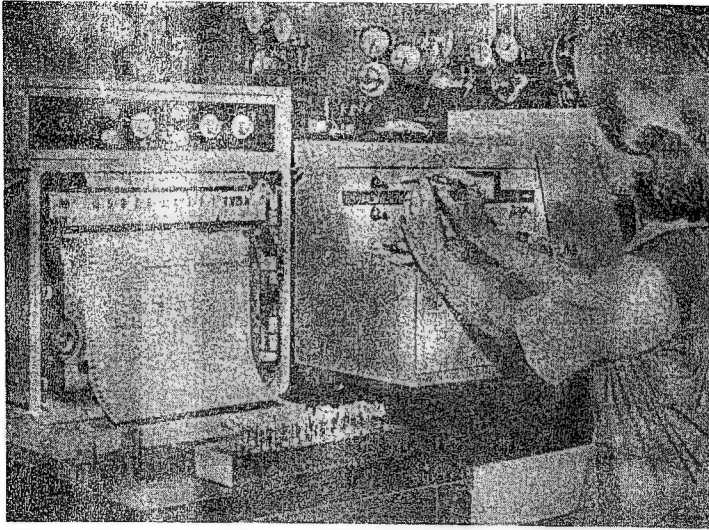
(2) يؤهل الجهاز على درجة حرارة ومعدل سريان الغاز وذلك بتشغيله تحت ظروف التحليل ولكن دون حقن النموذج المراد تحليله لكي يتم التخلص من اي تأثيرات لا ترجع الى المادة المراد تحليلها .

(3) يؤخذ قدر معين من النموذج (سائل او ناتج التخمير) مذاباً في مذيب عضوي مناسب ويتم حقنه بواسطة محقن خاص وبسرعة تحت صمام مطاطي يقع في مسار تيار الغاز الغامل المتحرك (سواء كان غاز الهيدروجين او الهيليوم او النتروجين او الارگون) ويسمى الصمام باب دخول النموذج ، وكما مبين في الشكل (19.12) .

(4) يحمل تيار الغاز النموذج الى عمود التوزيع التجزيئي الذي يكون مسخناً الى درجة حرارة عالية .

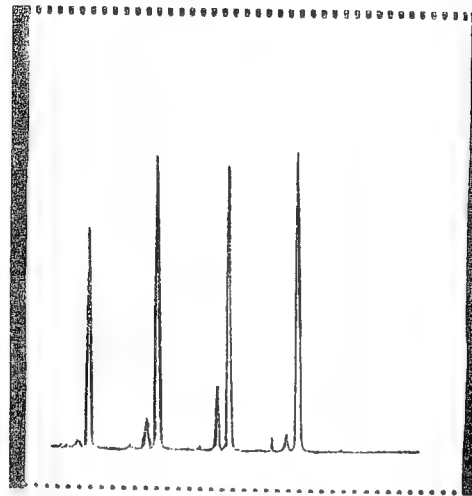
(5) وباستمرار مرور الغاز خلال عمود التوزيع تبدأ اكثر المواد تطايراً فسي الخروج من العمود محمولة في تيار الغاز الى المكتشف الالكتروني تليها المادة الاقل تطايراً وهكذا . ويحدث في المكتشف استجابة لابخرة المواد المنفصلة تسجل على هيئة منحنيات بواسطة المسجل ، بحيث يكون زمن تسجيل المنحني دالة لنوع المادة المنفصلة ومن الازمنة المختلفة الخاصة بالمنحنيات يسكن التعرف وصفيًا على المواد المنفصلة في مخلوط منها . وبعد ارتفاع كل منحنى وبدرجة ادى المساحة الواقعة تحت كل منحنى ، دالة لكمية المادة وتستخدم هذه الارتفاعات او المساحات في التقدير الكمي للمواد المنفصلة والتي عددها يساوي عدد الذروات التي تم تسجيلها (الشكل (20.12) .

(6) يتم وبنفس الطريقة عمل كروماتوجرامات غازية وتحت نفس ظروف التشغيل لنماذج قياسية من المادة النقية ومن ثم تقارن بالكروماتوجرامات للمساود المحتمل وجودها في المخلوط المجهول وبالتالي يمكن التعرف على هذا المواد وصفيًا كما يمكن تقديرها كميًا .



الشكل (19.12)

عملية حقن عينة نتائج التتبع في جهاز التحليل الكروماتوجرافي الغازي ، وتظهر الورقة الخارجة من المسجل متعنيات المواد المنفصلة •



الشكل (20.12)

كروماتوجرام غازي لنواتج التحلل المنفصلة بالتفصيل الكروماتوجرافي الغازي •

٤ . 12 . 5 . التحليل الكروماتوجرافي السائل Liquid Chromatography

يعد الكروماتوجرافي السائل LC من الطرق الحديثة السريعة ذات الدقة العالية التي شاع استعمالها في أواخر السبعينات . ولعل من الضروري ان نذكر بأن هناك نوعين رئيسيين من الكروماتوجرافي السائل ينتصان بالـ HPLC . الاول هو الكروماتوجرافي السائل العالي الكفاءة High Performance Liquid Chromatography ، والثاني هو الكروماتوجرافي السائل العالي الضغط High Pressure Liquid Chromatography . ويمكن الاختلاف بين الاثنين في مقدار الضغط المستخدم في العمود ، حيث يبلغ الضغط في الاول ما يقارب 35 كغم/سم² بينما يبلغ في الثاني 350 كغم/سم² . ويكاد يكون الـ HPLC ملائماً لفصل جميع أنواع المركبات تقريباً وذلك لعدد أنواع الاعمدة المتوفرة والمستخدمة في الفصل . اذ يمكن ان يتم الفصل على أساس واحد أو أكثر من ميكانيكيات الفصل التالية :

- 1 . الامتزاج Adsorption
- 2 . التجزئ Partition
- 3 . التبادل الأيوني Ion-Exchange
- 4 . الرفض أو الإبعاد Exclusion

ان هذا التنوع والتعدد في أسس الفصل جعلت من الكروماتوجرافي السائل يفوق في انتشار استعماله الكروماتوجرافي الغازي السائل GLC الذي تنحصر فائدته في فصل المركبات المتطايرة .

ويتألف جهاز الـ HPLC من الوحدات الرئيسة التالية والموضحة في الشكل

(21.12) :

- 1 . منظومة توزيع المذيب Solvent Delivery System — وتتمثل هذه المنظومة بمستودع المذيب وتقوم بدفع المذيب خلال العمود بالضغط المطلوب .
- 2 . منظومة حقن العينة Sample Injection System — وهذه تستخدم في حقن العينة تمهيداً لدخولها الى العمود محمولة بواسطة المذيب القادم من منظومة توزيع المذيب .

3 . عمود الفصل Separation Column — ويحتوي العمود على مواد مألثة

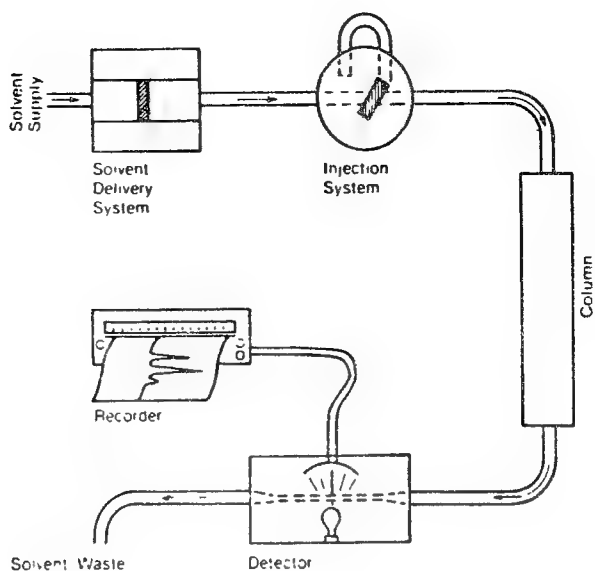
صلدة أو مسامية من مشتقات الكروموسورب Chromosorb حيث يمر خلالها المذيب والعينة المراد فصل مكوناتها .

4 . منظومة الاستجابة (المكتشف) Detection System — وهذه تتركب من

خلية يمر خلالها المذيب القادم من العمود وتتصل خلية العينة بجهاز تسجيل (مسجل) Recorder . وحاليا يوجد عدد من المكتشفات تتفاوت في

صفاتها ومجالات استعمالها ، ويدرج الجدول (21.12) ملخصا لهذه المكتشفات .

وكذلك فانه بالامكان جمع الاجزاء fractions الخارجة من منظومة المكتشف لاسترجاع المركب أو المركبات المراد فصلها أو تقديرها بصورة نقية .



الشكل (2.12) . رسم تخطيطي لجهاز التحليل الكروماتوجرافي السائل

الجدول (12-21)
انواع المكتشفات المستخدمة في الـ HPLC مع بعض خصائصها المميزة

نوع المكتشف (تبعاً للخاصية التي يقوم عليها)	الحساسية (غم/ مل)	التخصص	حجم الخلية (ميكروليتر)
1- مكتشف امتصاص الأشعة فوق البنفسجية UV Absorbance Detector	$10^{-10} \times 5$	متخصص	8
2- مكتشف معامل الانكسار Refractive Index Detector	$10^{-7} \times 5$	عام	3
3- مكتشف امتصاص الموجات المختلفة الأطوال Variable-Wavelength Absorbance Detector	$10^{-9} \times 5$	متخصص	8
4- مكتشف الوميض Fluorescence Detector	اقل من 10^{-9}	متخصص جداً	10
5- مكتشف التأين باللهب Flame Ionization Detector	10^{-18} غم/ ثانية	عام	—
6- مكتشف التوصيل Conductivity Detector	10^{-8}	متخصص في الجزيئات المشحونة	1.5

13.2. التبادل الايوني Ion exchanger

قد يمد هذا التحليل نوعا من التحليل الكروماتوجرافي بالامتزاز ، الا انه في حالة الاخير وكما سبق توضيحه تكون القوى الرابطة السطحية الامتزازية ، وهي قوى طبيعية غير قادرة على حمل الشحنات ، هي المسؤولة عن عملية الفصل الكروماتوجرافي . بينما في حالة التحليل بتبادل الايونات تكون القوى الكهروكيميائية electrochemical ، وهي قوى قادرة على حمل الشحنات ، هي المسؤولة عن الفصل اذ تتأثر بالعوامل الكيميائية كالحموضة والقلوية مقدرة في صورة أم هيدروجيني .

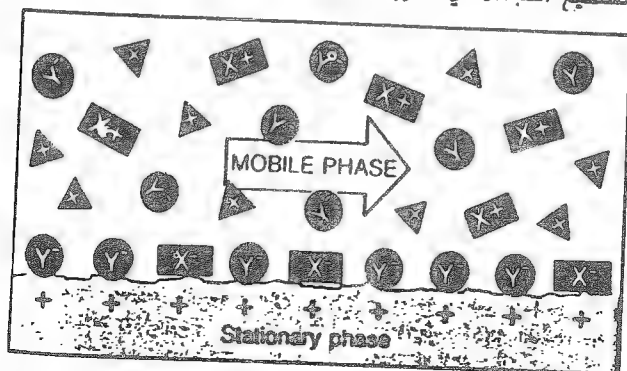
ويعرف التحليل بتبادل الايونات بأنه تفاعل الكتروليتاتيكي بين الايونات الموجودة في المحلول وبين الايونات الموجودة على سطح المبادل الايوني . لذلك يشترط ان يكون التبادل بين الايونات المتشابهة ، بمعنى ان التبادل يحدث بين كاتيونات مخلوط المواد المراد فصلها على مواد تبادل (راتنجات Resins) تحمل الشحنة الموجبة ، وايضا لانيونات المخلوط على مواد تبادل تحمل الشحنة السالبة .

وتتم عملية الفصل بتبادل الايونات في اعمدة ، فهو بذلك مشابه للتحليل الكروماتوجرافي بالامتزاز في اسلوب العمل مع بعض الاختلافات وخصوصا فيما يتعلق بنوع المادة الحاملة او المائلة للمود . والمبادل الايوني Ion exchanger عبارة عن جزئي كبير متعدد الكتروليت غير ذائب في الماء يحتوي على روابط عرضية وله تركيب شبكي يحمل مجاميع وظيفية functional groups (وهي الكتروليتات) تم على سطحها عملية التبادل الايوني .

وتكون عمليات التبادل الايوني اترائية اذ تتضمن : - (1) نفاذ الايون خلال فيلم السائل المحيط بالمبادل والوصول الى سطحه أولا ومن ثم الى موقع التبادل ، (2) عملية التبادل ، (3) خروج الايون المتبادل من داخل التركيب الشبكي الى خارجه بعيدا عن السطح ، كما هو موضح في الشكل (22.12) .

وتقسم المبادلات الايونية تبعا الى منشأها الى مبادلات ايونية طبيعية natural ومبادلات ايونية مغلقة synthetic . وتمثل الاخيرة أهم مجموعة من المبادلات

الايونية اذ يتم تخليقها اما بواسطة التكثيف التجميعي **polycondensation** او بواسطة البلمرة **polymerization** للستيارين المتعدد **polystyrene** .
 كما يمكن تقسيم المبادلات الايونية تبعا لطبيعة مجاميعها الوظيفية الفعالة الى : -
 (1) مبادلات كاتيونية **Cation exchangers** اذ تحمل باستمرار شحنة سالبة عند تأين مجاميعها الوظيفية (سلفون أو كربوكسيل أو فينول) وعليه فانها تستطيع استبدال اي كاتيون يحمل شحنة موجبة .



الشكل (22.12) ميكانيكية كروماتوجرافي التبادل الايوني (ان الاحتفاظ بالايون Y^- يتعده بواسطة درجة انحلال AY وكذلك بواسطة ميل او الفة Y^- وتركيزه بالمقارنة مع تركيز X^-)

(2) مبادلات انيونية **Anion exchangers** وهذه تحمل شحنة موجبة عند تأين مجاميعها الوظيفية النشطة (مجاميع الامونيوم الرباعية او السلفونيوم او الامين الاولي والثانوي والثلاثي) ويمكن ان تستبدل اي انيون يحمل شحنة سالبة .

ويجب معاملة الراتنج قبل استخدامها في التحليل . ففي حالة الراتنجات الكاتيونية يتم ملء العمود بحجم معين من الراتنج حسب طريقة التحليل ، ويدعى الحجم الذي يشغله الراتنج في العمود بحجم المبادل **Bed-volume** .
 ذلك يفصل بحجمين من NH_4Cl 2.0 وحمضه أحجام من الماء ثم بحجمين من $1.5 N-NaOH$ واخيرا بحمضه أحجام من الماء . وقد تتغير هذه الحجوم تبعا لنوع التحليل والراتنج

وطول عمود المبادل • وينبغي دائماً ملاحظة ان يكون الراتنج منطى بالمحلول •
ويختبر المحلول المتدفق من أسفل العمود في المرحلة الاخيرة بواسطة دليل
الفينولفثالين للتأكد من ازالة أي زيادة من هيدروكسيد الصوديوم • ثم يفسل
المبادل بحجمين من الايثانول وبحجمين من الماء المتعادل (ينبغي ان يكون الماء
المستخدم في الفسيل خال من المادن او الايونات **Deionized water**) • وفي
هذه الحالة يكون الراتنج في الصورة الصوديومية ، ولجعله في الصورة الهيدروجينية
يعاد غسله بـ **N-HCl 2** ومن ثم الفسيل بالماء •

وفي حالة الراتنجات الانيونية يتبع نفس الاسلوب السابق ولكن بدءا بالفسيل
بـ **N-NaOH 1.5** ومن ثم **N-HCl 2** ، ويجب ان يعطي ماء الفسيل النهائي اختبارا
سالباً مع نترات الفضة (اي لا يوجد راسب كلوريد الفضة) • وعند هذه المرحلة
يكون الراتنج في صورة الكلوريد ولجعله في صورة الهيدروكسيد يعامل بـ
N-NaOH 1.5 ثم الفسيل بالماء •

وبعد انتهاء التحليل وفصل مكونات المخاليط المجهولة يعبد المبادل الايوني
Regeneration لاعادة استخدامه من جديد • وتجدد المبادلات الكاتيونية
باستخدام الاحماض مثل **HCl** في حين تستخدم القواعد مثل **NaOH** في تجديد
المبادلات الانيونية وكما سبق ذكره بالامكان التعرف على تمام عملية الفسيل بتتبع
الاس الهيدروجيني او قياس المقاومة الكهربائية لمحلول الفسيل •

وتستخدم راتنجات التبادل الايوني في فصل وتحليل مخاليط الاحماض
الامينية ونواتج تحلل البروتينات وفي فصل وتقدير الاحماض النووية والقواعد
النتروجينية وكذلك الاحماض العضوية والالدهيدات والكيونونات واستخدامات
عديدة اخرى سواء ما يتعلق ببيئة الخمر او نواتجه •

وهناك مبادلات ايونية اخرى غير راتنجية هي المبادلات الايونية السليطوزية
، اذ تمتاز الياف السليطوز بكونها محبة للماء وان طبيعتها اللبينية تجعل من مجاميعها
الوظيفية اقرب واسهل في الوصول اليها حتى للجزيئات انسخمة الموجودة في
المحلول المحيط بها • وعلى ذلك فان السعة الفعالة لهذه المبادلات تكون أعلى من
تلك التي للمبادلات الراتنجية •

ومن المعروف ان السليلوز يتكون من وحدات الجلوكوز المرتبطة ببعضها بروابط $\beta(1 \rightarrow 4)$ لجلايكوسيدية ، وبالإمكان استبدالجميع الهيدروكسيل في المواقع 2, 3, 6 بمجاميع وظيفية أخرى ، وتمتلك المشتقات الناتجة قدرة تبادل ايوني كبيرة . ومن المبادلات الكاتيونية السليلوزية ، كربوكسي مثيل سليلوز **CM-cellulose** والسيللوز المفسفر **Phosphorylated cellulose** وسلفومثيل سليلوز **Sulfomethyl cellulose** . ومن المبادلات الانيونية السليلوزية ، أمينو أثيل سليلوز **AE-Cellulose** وثنائي أثيل أمينو أثيل سليلوز **DEAE-Cellulose** وثلاثي أثيل أمينو أثيل سليلوز **TEAE-Cellulose** . وتحضر هذه المشتقات في صورة رقائق **flakes** أو مسحوق أو ورق للتقديرات المختلفة ، وتمتاز بأنها تقاوم المحاليل الحامضية والقلوية الضعيفة كما يمكن تجديدها وإعادة استخدامها مرارا ويتحدد ثباتها بثبات التركيب الشبكي **- matrix**

ويجدد عمود المبادل السليلوزي بالنسيل المتتابع بكل من محلول **2 M-NaCl** (بسقدار ضعف حجم العمود) ثم بالماء (٤ حجوم) ثم **1 N-NaOH** (٤ حجوم) ثم الماء (4 حجوم) . اما المبادل الانيني فانه يستمر في غسله بعدما سبق بحامض **1 N-HCl** (حجمان) ثم بماء سبق غليه وتبريده (٤ حجوم) واخيرا يجري التوازن باول محلول منظم سيتم استعماله وبذلك يصبح المبادل جاهزا للاستعمال . ويستفاد من المبادلات الايونية السليلوزية في فصل البروتينات والنيوكليوتيدات والاحماض النووية وغيرها من المركبات الموجودة في بيئة التخمر او ناتج التخمر .

2. 14. الغربلة الجزيئية او الترشيح بالهلام Molecular Sieving or Gel Filtration

يمكن فصل المواد تبعا لاجسامها الجزيئية أو بمعنى ادق تبعا لاوزانها الجزيئية بواسطة الغربلة الجزيئية التي يمكن ان تتم في اعمدة حيث يعبأ الهلام في عمود لاجراء الفصل داخله أو بشكل طبقات رقيقة **Thin-Layer Gel** حيث يكون الهلام منشورا على سطح جسم صلب . ويعتمد هذا النوع من التحليل على ظاهرتين اساسيتين :-

الاولى : ظاهرة توزيع جزيئات المذاب بين وجهين احدهما ثابت وهو في هذه

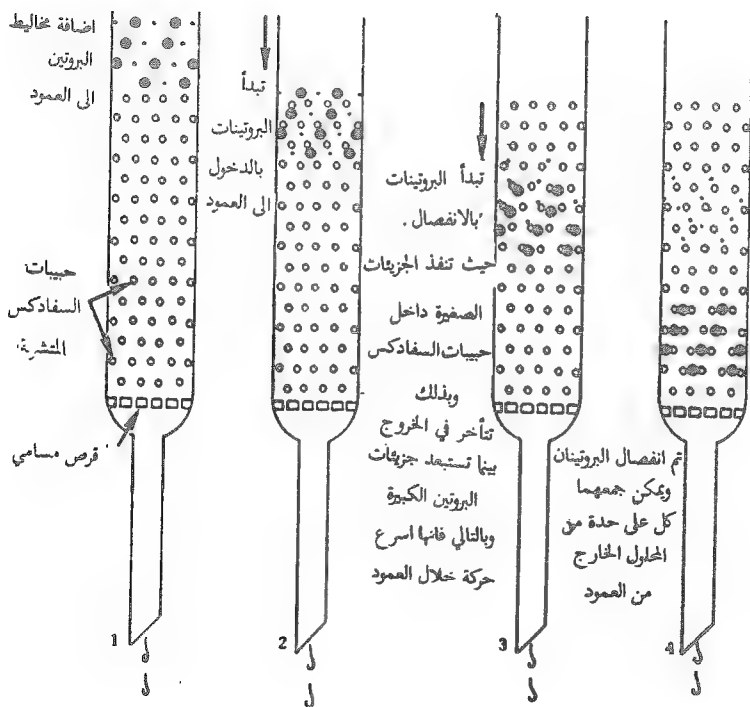
الحالة حبيبات الهلام المثشربة (المنتفخة) بالماء والاخر متحرك يمثله
 محللول الاظهار أو التحميض الذي يحتوي على النموذج •
 الثانية : ظاهرة الغزيلة الجزيئية التي تتم داخل حبيبة الهلام نفسها •

وبصورة عامة اذا كانت ثقبوب الشبكة أكبر من جزيئات المذاب فان الاخيرة
 تدخل خلال التركيب الشبكي وتستغرق وقتا طويلا للخروج منه وبالتالي يتأخر خروجها
 من نهاية العمود • ويحدث العكس اذا كانت ثقبوب الشبكة اصغر من جزيئات المذاب
 اذ تبقى الاخيرة في الوجه المتحرك وتخرج بسرعة من نهاية العمود • وان كل
 مرحلة من المراحل السابقة سواء كانت عملية التوزيع بين الوجهين الثابت والمتحرك
 أو عملية الغزيلة (الفصل) الجزيئية داخل حبيبة الهلام لها اتزان وثابت
 اتزان **Equilibrium constant** .

فالجزيئات الكبيرة الحجم يلزمها وقت قصير للخروج من نهاية العمود
 وبالتالي فانها تحتاج الى حجم استرداد صغير **Elution Volume (Ve)** ، وعادة
 يكون حجم الاسترداد اقل من حجم طبقة الهلام (او العمود) **Bed Volume** . وقد
 وجدت علاقة كبيرة بين حجم الاسترداد **(Ve)** وبين الوزن الجزيئي للمذاب ، اي
 كلما زاد الوزن الجزيئي للمذاب فانه يحتاج الى حجم استرداد اقل كما هو موضح
 في الشكل (23.12) والشكل (24.12) ولهذه الطريقة من التحليل اسماء
 مختلفة منها كروماتوجرافي الغزيلة الجزيئية أو كروماتوجرافي الترشيح بالهلام
 أو كروماتوجرافي الرفض أو الاقصاء **Exclusion Chromatography** .

وكلمة هلام **Gel** تعني مادة رخوة مرنة تحتوي على ماء (وهناك انواع من
 هلامات لاتنتفخ بالماء فقط وانما بالمذيبات المضوية ايضا) لها تركيب ثلاثي
 لايعاد يحتوي على روابط عرضية تعطي للهلام الثبات الميكانيكي •

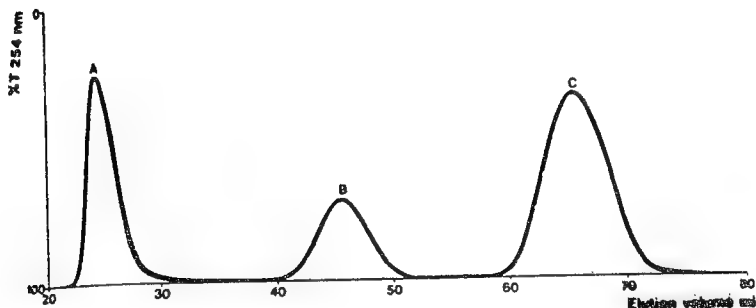
وهناك العديد من المواد الطبيعية القادرة على تكوين الهلام ، وهذه تشمل
 السكريات المتعددة من الفواكه والجذور ، والبروتينات من الانسجة الحيوانية ،
 السليكات والفوسفات اللاعضوية • وبعملية الارتباط العرضي مع مادة رابطة
 عرضية مناسبة وغالبا ما تكون كبيرة الجزيء (مخلقة او طبيعية) يمكن تكوين
 هلام في مذيب مناسب •



الشكل (23.12) • رسم تخطيطي لكروماتوجراف في الترشيح بالهلام •

والهلامات المختلفة تتفاعل بشكل متفاوت لازالة السائل منها • وهنالك مجموعة من الهلامات يطلق عليها **Xerogels** وهي التي تنكمش عند التجفيف إلى مادة متراسة تحتوي على مادة الهلام فقط • في حين المجموعة الأخرى من الهلامات المسماة **Aerogels** لا تنكمش وبدلاً من ذلك ينفذ الهواء المحيط إلى الهلام • وعندما تلامس هلامات **Xerogels** السائل المناسب لمادة الهلام فإنها تمتص وتتنفخ وتعود إلى حالة الهلام • في حين في حالة هلامات **Aerogels** يستبدل الهواء الموجود في الهلام بالسائل عند تعريض الهلام الجاف له • وفي هذه العملية

فان جميع الهلامات لا تعود الى حالتها الاصلية كما ان من الهلامات تغير خواصها عند التجفيف والترطيب .



الشكل (24.12) - فصل مخلوط الديكستران الازرق Blue Dextran 2000

وسايتوكروم c وفيتامين B_{12} على سفاكس G-75
 [حيث : طول العمود = 1.6×35 سم ، حجم المينة 1 مل وتحتوي على 2 ملغم من الديكستران الازرق 2000 و 2 ملغم من سايتوكروم c و 1 ملغم من فيتامين B_{12} ، المحلول المسترد هو يفر الفوسفات (0.05M, pH 7.08) يحتوي على NaCl (0.1 M) سرعة السريان = 0.2 مل / دقيقة ، والذروات هي A = الديكستران الازرق (وزنه الجزيئي 2,000,000) B = سايتوكروم C (وزنه الجزيئي 12,500) C = فيتامين B_{12} (وزنه الجزيئي 1,350)] .

ومن وجهة نظر الخواص الكروماتوجرافية والخواص العامة للهلام فان هناك نوعين مختلفين يمكن التمييز بينهما هما : هلام **macroreticular** وهلام **microreticular** . فالهلامات من نوع **macroreticular** لها خواص تشير الى أن تركيبها الدقيق يكون مختلفا كثيرا اذ ان هناك مناطق تتجمع فيها مادة الهلام **gel matrix** ومناطق تحتوي على قدر قليل جدا من هذه المادة . وهذا التركيب ذو الفراغات الكبيرة التالي من مادة الهلام يسمح بدخول الجزيئات

الكبيرة في حين مناطق الكثافة العالية من مادة الهلام تثبت الهلام وتجعله صلبا .
 في حين للهلامات من نوع **microreticular** خواص تشير الى ان مادة الهلام
 تكون موزعة بانتظام خلال الهلام ، وعليه فانها تفصل مجالات منخفضة من الاوزان
 الجزيئية مقارنة بهلامات **macroreticular** وعادة ما تكون هذه الهلامات
 طرية .

ومكنا فان هلامات **macroreticular** عادة ما تكون من نوع هلامات
Aerogels في حين غالبا ما تكون هلامات **microreticular** من نوع هلامات
Xerogels .

ومن بين العديد من الهلامات الموجودة او التي يمكن تخليقها فان عددا قليلا
 فقط يكون مناسباً لكروماتوجرافي الهلام . فضلا عن الاحتياجات الكروماتوجرافية
 فان الهلامات ينبغي ان تفي ببعض المتطلبات العملية ومنها :

- (1) ان تكون مادة الهلام خاملة .
 - (2) ان يكون الهلام ثابتا كيميائيا .
 - (3) ان يحتوي على أقل ما يمكن من الجاميع الايونية لتجنب تأثيرات التبادل
 الايوني .
 - (4) امكانية كبيرة للمفاضلة بين انواع الهلام التي لها نفس التركيب الكيميائي
 الملم ولكن بمجالات تجزئة مختلفة وذلك لتسهيل عمليات الفصل المختلفة .
 - (5) امكانية التحكم بدقة بحجم الجسيمات وكذلك توزيعها بانتظام .
 - (6) ان تكون الصلابة الميكانيكية لجسيمات الهلام عالية قدر الامكان والا فانها تميل
 للتفكك بواسطة القوى المسببة من سريان السائل خلال طبقة الهلام .
- وهناك أربعة أنواع من الهلامات تستخدم في الغريلة الجزيئية ، ثلاثة منها
 تنتفخ بالماء والنوع الرابع له القدرة على الانتفاخ في الماء وفي المذيبات غير القطبية
 وهي :-

- (1) هلامات الديكستران (السفادكس) **Dextran gels (Sephadex)**
- (2) هلامات بولي اكريل اميد **Polyacrylamide gels, Bio-Gel**
- (3) هلامات الاجار والاجاروز **Agar and Agarose gels**
- (4) هلام السفادكس الاقل قطبية **Sephadex LH-20**

3. طرق التحليل البيولوجية Biological Assays

تتضمن طرق التحليل البيولوجية اولا التحليلات التي يقوم فيها المركب المراد تقديره بحث أو خفض نمو كائن الاختبار المجهرى الحساس ، وثانيا التحليلات التي تستخدم الانزيمات . وعادة تكون طرق التحليل البيولوجية صعبة الانجاز او الاداء ، وذات اخطاء كبيرة واكل تكرارية من طرق التحليل الكيمياوية او الفيزياوية . لذلك تعد العناية الكبيرة في القياس عند كل خطوة من خطوات التحليل الزامية . وفي الحقيقة أن هذه التحليلات لا تستعمل عادة اذا تيسرت طريقة تحليل جيدة بديلة سواء كانت فيزيائية ام كيمياوية .

وقد تكون كائنات الاختبار المستخدمة في التحليلات البيولوجية سلالة موجودة اعتياديا في الطبيعة ، او قد يكون سلالات تم احداث طفرات صناعية فيها من اجل استخدامها في تحليل معين . وكمثال عن الحالة الاخيرة هي السلالة الميكروبية التي تطفرت ، بسبب نقص الانزيمات ، بحيث تحتاج الى مركب معين للنمو وتوفر استجابة نمو متدرجة في وجود مستويات متفاوتة من هذا المركب . وهناك انواع مختلفة من الاحياء المجهرية المستخدمة في التحليلات البيولوجية . اذ استخدمت البكتريا في تحليل الاحماض الامينية والمضادات الحيوية والفييتامينات . واستخدمت الخمائر في تحليل الفيتامينات والمضادات الحيوية . في حين استخدمت الفطريات في تحليل الفيتامينات والمعادن الضئيلة والمضادات الحيوية ومبيدات الفطريات والمواد الموقفة لنموها . كما استخدمت *Euglena gracilis* وهي من البروتوزوا في تحليل فيتامين B₁₂ . وعليه من الناحية العملية بالامكان استخدام اي كائن حي مجهرى اذا استجاب بطريقة متدرجة الى تركيزات متفاوتة من المادة المراد تقديرها .

وبصرف النظر عن الكائن الحي المختار للتحليل المعين ، فانه يجب أن يفي بعدد من المتطلبات لكي يعد كائن اختبار جيد :-

(1) أن يكون له ثبات بحيث لا تحدث تغيرات غير مرغوبة في الاستجابة للمركب المختبر .

(2) أن يستجيب بطريقة متدرجة للمركب المختبر فقط وليس للمواد

الايخرى التي قد تتواجد في المحلول تحت الاختبار .
(3) ان ينمو بطريقة مريضة نسبيا على بيئة بسيطة ، ويفضل أن لا يكون كائنا ممرضاً .

(4) ان ينمو بطريقة تسهل من متابعة وقراءة التقدير . اي يجب ان لا تتجمع الخلايا عند تقدير المكاراة أو أن لا تحتشد عبر سطح الاجار عند التقدير بطريقة الانتشار .

(5) ان يكون هوائيا او هوائيا اختيارا نظرا لصعوبة انجاز التحليلات اللاموائية ولاحتياجها الى مددات خاصة .

(6) واخيرا ، ان ينمو جيدا عند pH لا يؤثر في ثبات وسمية المادة تحت الاختبار وتقع طرق التحليل البيولوجية في أربعة مجاميع رئيسية هي : التحليل بالانتشار ، والتحليل بقياس المكاراة ، والتحليل بالاستجابة الايضية ، والتحليل بالانزيمات . وسنتكلم عن كل مجموعة بشيء من التفصيل .

1.3 طرق التحليل بالانتشار Diffusion Assays

تجري طرق التحليل بالانتشار على بيئة صلبة ، وعادة بيئة الاجار ، التي تمد مناسبة لنمو كائن الاختبار . ويسمح للمركب المراد تقديره بالانتشار خلال البيئة وبشكل نصف قطري من وسادة أو قبة بحيث أن نمو كائن الاختبار المتأخم اما أن ينخفض كما هو الحال مع مضاد حيوي (الشكل 25.12) ، أو أن يحد كما هو الحال مع عامل نمو (الشكل 26.12) . ويشير قطر هذه المساحة الى تركيز المركب تحت الاختبار ، ويقارن مع اقطار من مناطق ماثلة متكونة بواسطة تركيزات مختلفة معلومة من المركب القياسي أو المرجعي . ويرسم منحنى يبين اقطار المناطق للمركب القياسي ازاء لوغاريتم التركيزات المستخدمة ، ويستخدم الجزء الخطي من هذا المنحنى القياسي في تعيين التركيز الفعلي للنموذج تحت التحليل .

وهناك طريقتان من التحليل بالانتشار ، ورغم تماثلها نوعا ما ، الا ان لكل طريقة ميزاتها الخاصة . ففي طريقة الاسطوانة Cylinder Method (الشكل 27.12) فان جزءا من محلول المضاد الحيوي او اي ناتج تخمري اخر ينتشر من مستودع reservoir او اسطوانة الى الاجار المحيط . في حين فسي



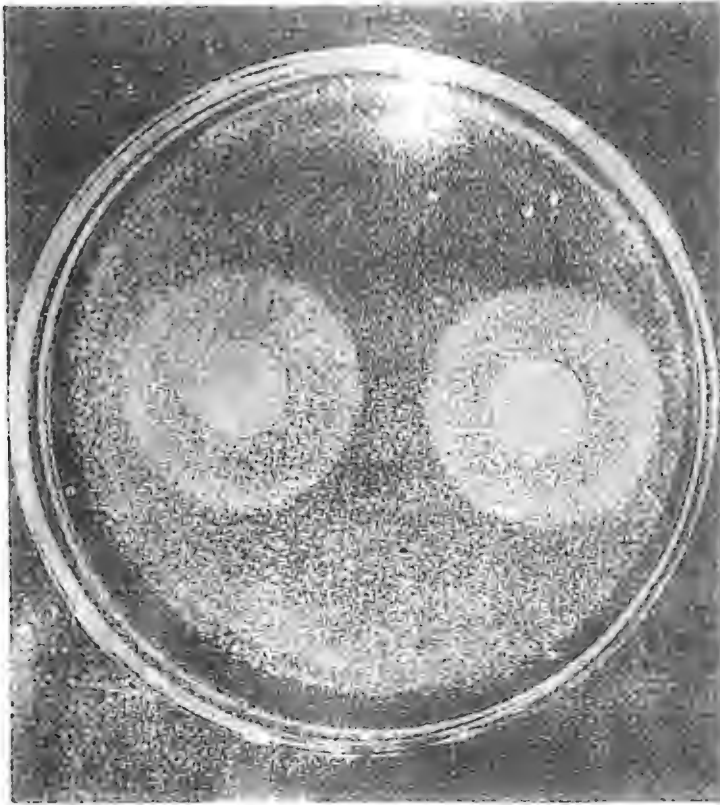
الشكل 25.12 . تثبيط النمو بواسطة انتشار المضاد الحيوي خلال بيئة الاجار .

قرص ورقي .

1 تم تحطيط الاحار في الطبق العلوي بثلاثة كائنات اختبار مختلفة ، وقد زر

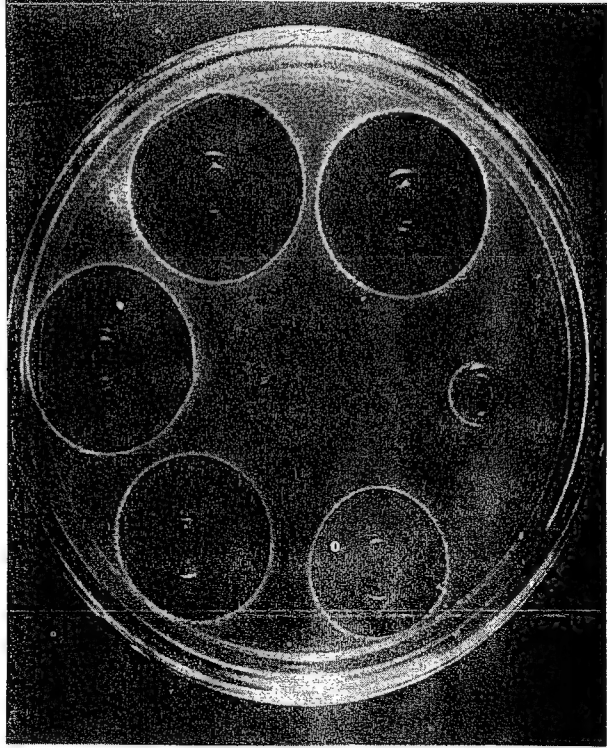
الطبق السفلي بفطر . ولم يظهر القرص الرابع في الطبق السفلي لكونه غير مرء

سبب النقص في نشاط المضاد الحيوي) .



الشكل 26.12 حث النمو بواسطة مادة تنتشر - (أ) ورق
(وقد زرع السطح الكلي للأجار بكال اختبار القرص)

طريقة القرص الورقي Method of Disc Diffusion (الشكل 25.12 والشكل 26.12) يضاف مقدار محدود من سائل اختبار مثل 0.1 مل إلى القرص . إذا وضع مقدار مقاس من بيئة ، مثلا 10 مل ، في اختبار تجري (طريقة لياست . وحال تصلب هذه الطبقة الأساس ، يضاف مقدار مقاس (مادة حوالي 5 مل) من نفس بيئة الاجار او غيرها ملحقة بكائن الاختبار المجري فوق الطبقة الاساسي ويسمح بالتصلب لتكوين طبقة اجار سميكة . ~~تستخدم هذه الطريقة~~ بعد استطلاعات صغيرة من المدن او من الخزف الصيني الثقيل او من الاعلى على سطح الارض .



الشكل (27.12). التحليل الحيوي لانتشار المضادات الحيوية بواسطة الاسطوانات •
(حيث تملأ الاسطوانات بالعينات المحتوية على تراكيز مختلفة من المضاد الحيوي)

ويساعد التسخين المسبق لهذه الاسطوانات على احكامها في الاجار • ويعتمد عدد الاسطوانات المستخدمة لكل طبق على احجام المناطق المتدفعة نظرا لوجوب عدم تداخل هذه المناطق ، وقد تخفف النماذج لتقييد المناطق • وتسلأ الاسطوانات بالتخفيفات المناسبة من المحاليل المراد تحليلها او بالمحاليل المحتوية على تركيزات معلومة من المركب المرجعي • وتحضن الاطباق لفترة زمنية معينة على درجة حرارة ثابتة • ثم يقاس اقطار مناطق النمو المحيطة أو مناطق النمو المنخفضة بالمليمترات ، ويعين تراكيز المحاليل تحت الاختبار بالمقارنة مع المنحني القياسي المحضّر من معلومات مناطق التثبيط أو الحث للمواد القياسية • وللحصول على نتائج صحيحة

وقابلة للتكرار ، ينبغي تكرار كل نموذج من المركب المجهول وكذلك كسل تركيز من المركب المرجعي عدة مرات وعلى أطباق مختلفة بحيث يمكن حساب متوسطاتها • ويجب أن يحتوي كل طبق تحليل على اسطوانة فيها تركيز واحد من المحلول القياسي في الاقل اضافة الى نماذج التخمر ، وذلك لانه من المرجح أن يكون التفاير في أحجام المناطق أكبر عند مقارنة القيم المتحصلة من أطباق مختلفة من مقارنة القيم المتحصلة من نفس الطبق •

وفي طريقة التحليل بالقرص الورقي ، تحضر أطباق بيئة الاجار المبذورة وتلقح كما هو الحال في طريقة التحليل بالاسطوانة • ومع ذلك فان المحاليل المراد تحليلها أو محاليل المركب المرجعي يتم اضافتها بحجم 0.1 مل الى اقراص ورق الترشيح المقمة (عادة بقطر 12.8 ملم) المدودة على سطح الاجار المبذور • ويمثل التحضين وكذلك حساب نتائج التحليل تلك التي لطريقة الاسطوانة • وكذلك تجد طريقة التحليل بالقرص الورقي استخداما عندما تكون نواتج التخمر المراد تحليلها مذابة في مذيبات سامة لكائن الاختبار • اذ تضاف المحاليل الى الاقراص المدودة على طبق زجاجي ثم يسمح للمذيبات بالتبخير قبل وضع الاقراص على بيئة الاجار المبذورة من أجل التحليل •

2.3. طرق التحليل بقياس العكارة والنمو Turbidimetric and Growth Assays

إن طرق التحليل بقياس العكارة هي تلك الطرق التي يقاس فيها تأثير المركب تحت الاختبار في المزرعة السائلة كزيادة أو نقصان في العكارة المترافقة مع معدل النمو أو النمو الكلي للكائن الحي المجهرى • اذ يتم توزيع مقدار مناسب من البيئة السائلة على سلسلة من الانابيب ثم تضاف مقادير متدرجة من المادة المراد تحليلها • وتلقح الانابيب بمقدار صغير وثابت من مزرعة كائن الاختبار النشطة الفتية ، ثم تحضن لفترة من الزمن مقدرة سلفا وعلى درجة حرارة ثابتة • ويتوقف طول فترة التحضين المراد استخدامه على عاملين :-

- (1) اما أن يتم قياس عكارة المزارع عند نقطة معينة خلال النمو اللوغاريتمي ، من أجل معرفة تأثير المركب في معدل النمو •
- (2) أو أن يتم قياس عكارة المزارع خلال طور النمو الثابت عند بلوغه الحد

الاقصى ، من أجل معرفة تأثير المركب في النمو الكلي للكائن الحي الذي
يسكن أن يحدث في البيئة الممينة .

كما يمكن تقدير المكاراة النسبية المتكونة في الانابيب بصريا . ومع ذلك

فان هذه التقديرات عادة ما تستخدم السيكتروفوتوميتر Spectrophotometer
مع مرشح أو أداة تفريد الضوء diffraction grating للسماح بمرور حزمة
طول موجي ضيقة من الضوء المنظور . ويتم تحديد اختيار أطوال الموجات بواسطة
لون البيئة بحيث يكون لون البيئة عند أطوال الموجات المناسبة قليل التأثير في
التحليل .

وتؤخذ القراءات ككثافة ضوئية Optical density أو امتصاص ضوئي
Absorbance . وإذا كان الجهاز يقيس النسبة المئوية للضوء النافذ
light transmittance ، فإنه بالإمكان تحويل القراءات الى امتصاصية ضوئية
بسهولة . وترسم الامتصاصية ازاء تركيز المركب القياسي للحصول على منحنى
قياسي . وعادة يكون جزء من المنحنى خطيا ، رغم انه في بعض الحالات يكون
من الضروري تحويل التركيز أو الامتصاصية . أو كليهما الى قراءات لوغاريتمية
للحصول على منحنى خطي .

ويضاف ناتج التخمر المراد تقديره بعدة تخفيفات مختلفة رغم ان تخفيفا
واحدا يكون كافيا من الناحية النظرية . ويعد هذا الاحتياط ضروريا عند تكون
المواد المراد تقديرها لم يسبق تحليلها بشكل روتيني . لذلك فان اجراء اختبار
بمستويات مختلفة من المادة المجهولة يضمن مطابقة الامتصاصية المتحصل عليها من
أحد التخفيفات للجزء الخطي من المنحنى القياسي . وعليه ينبغي ان تكون القيم
النهائية للتحليل المتحصل عليها من تخفيفين أو أكثر للنموذج متطابقة .

3.3. طرق التحليل بالاستجابة الايضية Metabolic Response Assays

تشابه طرق التحليل بالاستجابة الايضية مع طرق التحليل بقياس المكاراة
فيما عدا أسلوب قياس التأثير . اذ بدلا من قياس تأثير ناتج التخمر في معدل
النمو أو النمو الكلي لكائن الاختبار ، فان هذه الطرق تقيس تأثير ناتج التخمر
في بعض التفاعلات الايضية التي يقوم بها كائن الاختبار خلال النمو . ومن بعض

التفاعلات الأيضية المستخدمة في تحليلات من هذا النوع : إنتاج الحامض ، وتحرق غاز ثاني أكسيد الكربون ، وامتصاص الاوكسجين ، ونشاط انزيم الديهيدروجينيز .

4.3. طرق التحليل الانزيمية Enzymatic Assays

تعد طرق التحليل الانزيمية عالية التخصص ، ويمكنها كشف مقادير متناهية الصغر من نواتج التخمر اضافة الى قدرتها على التمييز بين الصور النشالة ببيولوجيا وغير النشالة للمركب . اذ يتم تحضيرين تحضير انزيمي (مواد من مصدر تجاري أو مزرعة ميكسوبية) مع نموذج من المزرعة السائلة وذلك لاحداث تغيير انزيمي مميّز في ناتج التخمر ، كالتحلل الجزئي مع تكوين ناتج قابل للقياس . وعلى سبيل المثال يمكن تقدير حامض جلوتاميك في نموذج صغير

من سائل التخمر بإضافة الخلايا المسؤولة لسلالات معينة من *Escherichia coli* التي تحتوي على انزيم جلوتاميك (سيد دي كربو كسيليز . ويضاف التولوين الى هذا الخليط لتثبيط الانزيم من الخلايا ، ويجرى التقدير عند pH 5.0 . ويتحرر جزيء واحد من CO_2 من كل جزيء حامض الجلوتاميك . ونظرا لكون

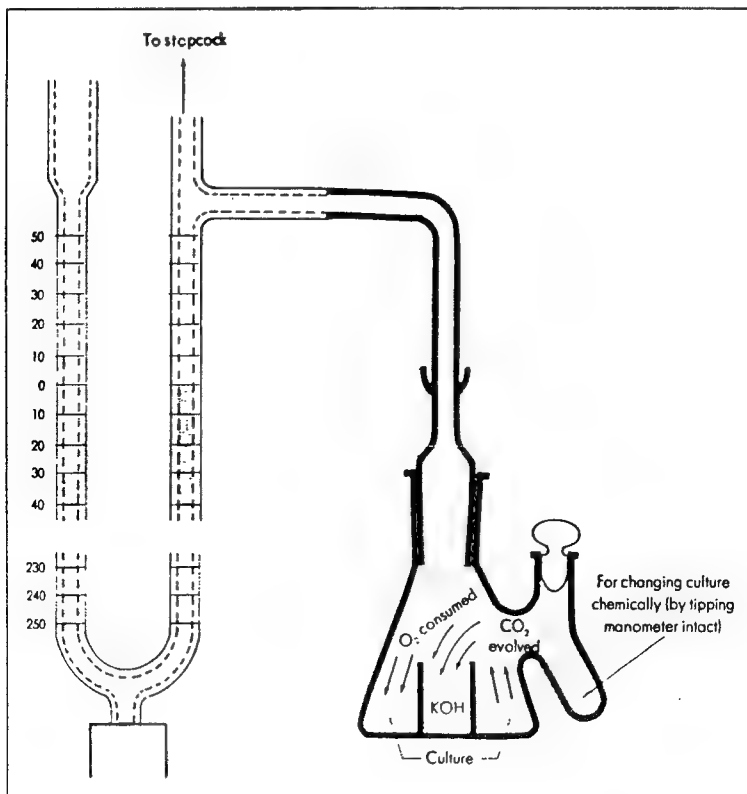
CO_2 قليل الذوبان في الماء عند هذا الـ PH فإنه يتحرر الى الجو كغاز يقاس بوسائل مانومترية كما هو الحال في استخدام جهاز فاربوريج لقياس التنفس Warburg manometer or respirometer . (الشكل 28.12) وقسم

لا يضاف التوارين اذا كانت خلايا البكتريا قد تم تجفيفها بالفراغ *in vacuo* وفوق $CaCl_2$ أو تجفيفها بالفصل المتكرر باستخدام الاسيتون البارد (مسحوق الاسيتون acetone powder) .

وينبغي اعتبار طرق التحليل الانزيمية بمثابة لتحديد دقتها العملية تحت الظروف الخاصة بالتجربة . لذلك يضاف مقدار معلوم من الناتج الكيميائي النقي كمادة قياسية داخلية الى نموذج من سائل التخمر النموذجي وليس الى نموذج آخر . وينبغي لتأثير التحليل ان تمكس كمية مقدار المادة الكيميائية المضافة . وفي حالة فشل هذا الاختبار تبحث الاحتمالات التالية :-

(1) قد يكون pH أو درجة حرارة التحليل، غير مثلى للأنزيم أو أن يكون الأنزيم غير فعال تحت هذه الظروف .

(2) قد توجد مركبات في نموذج سائل التخمر ، كالمعادن أو مواد تفاعل بديلة ، تثبط الأنزيم أو تتنافس على المواقع الفعالة active sites .



(حيث يغمر الدورق في حمام مائي ذا درجة حرارة ثابتة ، وعند بدء التجربة يكون مستوى السائل في كلا العمودين متساويا . ونتيجة لاستهلاك الاوكسجين في الدورق فان ضغط الغاز ينخفض وهذا ينمكس في ارتفاع السائل في العمود الداخلي . وبواسطة هذه التغيرات يمكن حساب كمية الاوكسجين المستهلكة في التفاعل) .

- (3) قد يكون الانزيم، غير ثابت في الاصل أو غير ثابت تحت ظروف التحليل .
- (4) قد يكون الانزيم غير موجود اصلا عند الاعتماد على مصادر ميكروبية في انتاجه ، نظرا لان ذلك قد يتطلب وجود ظروف نمو خاصة لم تتوفر للكائن الحي .
- (5) قد يكون الانزيم مخزونا بصورة غير ملائمة ، لذلك يجب الحصول على هذه التحضيرات من مصدر ينول عليه ويخزن جافا تحت التبريد بدون أن يصبح متيقا قبل الاستعمال .
- (6) قد يكون التخصص الانزيمي اما واطنا او عاليا جدا . ومن الواضح اذا هاجم الانزيم مركبات اخرى (كالايسومرات الفراغية) في المزرعة السائلة فيسر ناتج التخمر فانه سيمطي نتائج مفلوطة .
- (7) من الجائز أن لا يقوم التولوين باطلاق الانزيم ، لذلك يمكن استبداله بمذيبات اخرى كالبوتانول والكلوروفورم .
- (8) ولقد يحتوي المصدر الانزيمي أو سائل التخمر على انزيمات أخرى قادمة على اجزاء هيم اضافي لنتاج النشاط الانزيمي الاول . وهذا يمكن تجنبه بالسماح لنشاط الانزيم الرئيس ان يجري تحت ظروف مثلى من pH ودرجة حرارة لا تكون مثلى لنشاطات الانزيمات الاخرى الموجودة .

الفصل الثالث عشر

معاملات مخلفات التخمر

Fermentation Waste Treatments

- 1 . مقدمة
- 2 . هدف معالجة مخلفات التخمر
- 3 . الاحتياج للاوكسجين البيولوجي او الكيميائي
- 4 . طرق التخلص من المخلفات
 - 1.4 طرق الهضم اللاهوائية
 - 2.4 طرق الهضم الهوائية
- 5 . بعض الاعتبارات المهمة في طرق التخلص من المخلفات

1. مقدمة . Introduction

ينتج عن اغلب العمليات الصناعية مخلفات مائية تحتوي على كميات متفاوتة من الاملاح والمواد العضوية . وتحتوي المخلفات المرتبطة بالصناعات التخميرية على بيئات مستهلكة، ومياه غسيل ، ومياه متجمعة في الخطوات المختلفة من عملية استرجاع الناتج . وكذلك تتجمع مذيبات عضوية خلال استرجاع نواتج التخمير الصناعي الا ان هذه المخلفات تمرض مشاكل مختلفة كلية عن المشاكل السابقة ولن ندرجها في المناقشة .

ان المياه المتخلفة من عمليات التخمير الصناعي تحتوي على غرويات ذائبة بالماء ومخلفات عالقة وهي في هذا الخصوص تشبه تقريبا مخلفات المجاري العامة في متطلبات معاملاتها . وفي الحقيقة ان هذه المخلفات قد تضاف احيانا وبدون اية معاملة اضافية الى شبكة المجاري من اجل معالجتها بواسطة امكانيات البلدية كبقية مياه المجاري . وبصرف النظر عما يحدث ، لايجوز ان يتم التخلص من هذه المخلفات بطرحها مباشرة في الجداول او البحيرات او الانهار ، بسبب محتواها العالي من المادة العضوية غير المتحللة .

ان بعض مخلفات التخمير تحتاج الى معالجة خاصة قبل بدء المعاملة . فاذ استخدم في التخمير احد ممرضات النبات او الحيوان ، فان مخلفات التخمير تحتاج الى عملية تعقيم قبل ان تخضع لمعاملة المخلفات . وفي الحقيقة ، يستحسن في بعض الاحيان تعقيم مخلفات التخمير بصرف النظر عن استخدام ممرض في التخمير من عدمه بحيث ان الكائن الحي المجعري الخاص بالتخمير لا يمكن عزله ثانية بصورة سهلة من المياه المتخلفة بواسطة مؤسسة صناعية منافسة . وكذلك قد تحتاج البيئات المستهلكة او بقايا البيئات الى ترشيح مبدئي قبل تمزيق المعاملة وذلك لازالة الجوامد او الكتل الكبيرة للخلايا الميكروبية . واخيرا ، فان المياه المتخلفة الشديدة الحموضة او القلوية قد يحتاج الى معادلتها قبل تمزيق المعاملة البيولوجية للمخلفات .

ولما ان تعامل مصانع التخمرات الصناعية مياهها المتخلفة بوسائلها الذاتية وحسب الطريقة التي ترتئها بانها الاصلح او ان تقوم بطرح مياهها مع مياه المجاري لتجري معاملتها من قبل البلدية . وفي الحالة الاخيرة لا تكون جميع الترتيبات

ممكنة اذ تحتاج الى بعض امكانيات المعاملات الاضافية التي قد لا تحتاجها مياه المجاري غير الصناعية . وكذلك فان هذه المخلفات لا تكون دائمية ، اي بمعنى انها متقطعة وتؤدي الى زيادة حمولة معالجة مياه المجاري في وقت اضافتها اليها ، علاوة على عدم امكانية الاحتفاظ ببعض الاحياء المجهرية الطبيعية الخاصة بتحليل هذه المكونات ما دامت اضافة مياه مخلفات التخمر تكون متقطعة . وأخيرا فان السلطات المسئولة قد تشترط اجراء نوع من المعاملة المبدئية لمخلفات التخمر قبل طرحها مع مياه المجاري العامة .

2 . هدف معالجة مخلفات التخمر Aim of Waste Treatment

ان هدف المعاملة البيولوجية للمياه المتخلفة هو استخدام احياء مجهرية تسبب اكسدة كاملة لكل المكونات العضوية للمياه المتخلفة الى ثاني اوكسيد الكربون والماء . وتبعا لطريقة المعاملة المستخدمة ، فان الاملاح اللاعضوية الموجودة اساسا في المياه المتخلفة او الناشئة خلال معالجة المخلفات تخضع ايضا للاكسدة ، اذا كانت هذه الاكسدة ممكنة . ونتيجة لهذه العمليات التاكسدية المختلفة ، يجب ان تحتوي المياه المتدفقة من هذه المعاملة على كميات صغيرة جدا من المادة العضوية غير المتحللة تماما ، ولكنها قد تحتوي على كميات جدية بالاعتبار من المواد اللاعضوية كالكبريتات والفوسفات والنترات او الامونيا ويصرف النظر عن مكونات هذه المياه فانها يجب ان تكون قادرة على دعم نمو كبير للاحياء المجهرية ذاتية التغذية او غير ذاتية التغذية وبضمنها الطحالب ، بحيث يمكن اضافة الماء المتبقي الى مصادر المياه بدون ان تسبب نموا للاحياء المجهرية اكثر من العدد الادنى . وبالتالي فان المياه المتخلفة وغير كاملة المعاملة البيولوجية عند طرحها في الجداول او في اي مصدر مائي تكون معرضة لأكسدة ميكروبية اضافية للمادة العضوية وينتج عنها انخفاض في مستوى الاوكسجين المذاب في الماء . ويشجع هذا النقص في الاوكسجين المذاب انواعا غير مرغوبة من الاسماك وفي الحالات الشديدة الاسماك القاتلة وبعض صور الحياة المائية العالية ، كما يسبب حدوث ظروف لا هوائية تنتج عنها روائح كريهة . وتركز الجوامد الثقيلة في المياه المتخلفة غير كاملة المعاملة في قاع الجدول او البحيرة وتسبب تغيرات غير مرغوبة في انواع الاحياء المجهرية التي تعيش في القاع .

وتؤدي الاملاح اللاعضوية المتأكسدة والموجودة في المياه المتخلطة الكاملة الماملة وغير كاملة الماملة الى مشاكل اضافية بالنسبة للمياه الطبيعية التي تستلم هذه المياه الماملة . فالنوسفات والنترات والى بعض المدى الكبريتات والامونيا واملاح اخرى تمد مواد تسميد جيدة وتشجع نمو الاشنان والادغال المائية وهذه حالة غير جيدة وغير مفيدة بالنسبة لمظهر أو رائحة جسم الماء . وتستخدم هذه النباتات الاوكسجين المذاب في الليل عندما لا يحدث تخليق ضوئي ، وكذلك فان خلايا انسجتها قد تتحلل في بعض الاحيان وهذا يؤدي الى احتياجات اضافية للاوكسجين المذاب الموجود في المياه .

3 . الاحتياج للاوكسجين البيولوجي او الكيميائي

Biological or Chemical Oxygen Demand

كما ذكرنا ، فان مخلفات الصناعات التخمرية كغيرها من الصناعات الاخرى تحتوي عددا كبيرا من المركبات العضوية التي تتفاوت في قابليتها للتاكسد بين مركبات بسيطة سهلة التاكسد الى مركبات معقدة يصعب تاكسدها او تحليلها .

ويقاس مستوى المادة العضوية القابلة للتاكسد والموجودة في المخلفات المائية :
الصناعية او البلدية بصورة الاحتياج للاوكسجين البيولوجي (BOD)
Biological Oxygen Demand أو الاحتياج للاوكسجين الكيميائي (COD)
• Chemical Oxygen Demand

ويقصد بالاحتياج للاوكسجين البيولوجي (BOD) بأنه عدد مليغرامات الاوكسجين المستهلكة خلال التحلل البيولوجي للمادة العضوية الموجودة في لتر من الماء المتخلف خلال مدة معينة من الزمن (عادة خمسة ايام) وعلى درجة حرارة معينة (عادة 20 ° م) . ويقدر الـ BOD بتخفيف كمية مقاسة من الماء المتخلف باستخدام ماء مشبع بالاوكسجين ثم تحضين الخليط على درجة حرارة 20 ° م ، ونفس الوقت يجري تقدير خال Control باستخدام تخفيف الماء لوحده . وبعد 5 ايام يقاس الاوكسجين المتبقي في كلا النموذجين ، والفرق بين القراءتين يمثل كمية الاوكسجين المستهلكة من قبل الماء المتخلف ، وبحسب ليعبر عنه في صورة أجزاء بالمليون من الاوكسجين المأخوذ من قبل الماء المتخلف .

ولاجراء هذا التقدير ، يجب تلقيع الماء المتخلف بمياه المجاري أو بالوحل المنشط ،

او بمزارع نقية أو مختلطة ، أو باي مصدر للاحياء المجهرية يعرف بقدرته في
التأقلم على مثل هذه المادة المتخلقة .

ويقصد باحتياج للاوكسجين **الكيميائي COD** عدد المليغرامات من الاوكسجين
لكل لتر من الماء المتخلف الذي يستهلك خلال اكسدة المادة العضوية بواسطة محلول
ثنائي الكرومات المحمض الساخن . وتبدو هذه الطريقة من الوهلة الاولى بكونها
غير بيولوجية ولا تعطي صورة حقيقية لسهولة تحليل المادة العضوية أثناء المعاملة
البيولوجية للمخلفات ، لذلك فانها تستخدم للمقارنة مع نتائج ال **BOD** لانواع
معينة من المياه المتخلقة .

ان تقدير ال **BOD** وال **COD** يمكن اجراؤه في اية مرحلة من مراحل معاملة
المخلفات الصناعية والعامة وذلك للتأكد من كفاءة المعاملة او من حمولة المادة
العضوية القابلة للتحلل والتي لا تزال موجودة .

ومن الواضح ان معاملة المياه المتخلقة هي عملية تخمر حقيقية ، بالرغم من
عدم استخدام مزارع نقية من الاحياء المجهرية في التخمر ، وانما تستخدم الاحياء
المجهرية الموجودة طبيعيا في المياه المتخلقة . ويسمح لهذه الاحياء ان تصبح غنية
بمكونات المجموع الميكروبي الطبيعي والتي تكون اكثر فاعلية ونشاطا في تحليل
المادة العضوية .

وتشمل هذه الاحياء ، البكتريا غير ذاتية التغذية **Heterotrophs** ولدى
معين بعض الاكتينوبلاسميات والفطريات . وايضا فان البروتوزا تكون فعالة جدا
في هدم المادة العضوية . اما البكتريا ذاتية التغذية **Autotrophs** وبالرغم من
عدم قدرتها على هدم المادة العضوية الا انها تكون فعالة ، وبالتالي فان الامونيا
والمركبات الكبريتية المختزلة المتحررة من المواد البروتينية والمخلفات الاخرى تتأكسد
بسرعة الى النترات والكبريتات بواسطة هذه الاحياء المجهرية . وتكون البكتريا
اللاهوائية في أحواض الهضم اللاهوائي فعالة في هدم المادة العضوية ، وخصوصا
المادة العضوية الأكثر مقاومة . وتعطي نشاطات هذه البكتريا جزيئات عضوية
بسيطة كالأحماض والكحولات والجليسرول والامينات ونواتج أخرى للابيض

اللاهوائي بالإضافة الى نواتج غازية مثل ثاني اوكسيد الكربون والاهونيا والهيدروجين والميثان وكبريتيد الهيدروجين . وعلى أية حال ، فإنه تحت الظروف المثالية ، تستخدم البكتريا المنتجة للميثان معظم الجزيئات العضوية البسيطة الناتجة من النشاطات الايضية لاهويات أخرى معطية ثاني اوكسيد الكربون والميثان بحيث تصبح هذه الغازات النواتج الغازية الرئيسة للتحلل اللاهوائي للمادة العضوية .

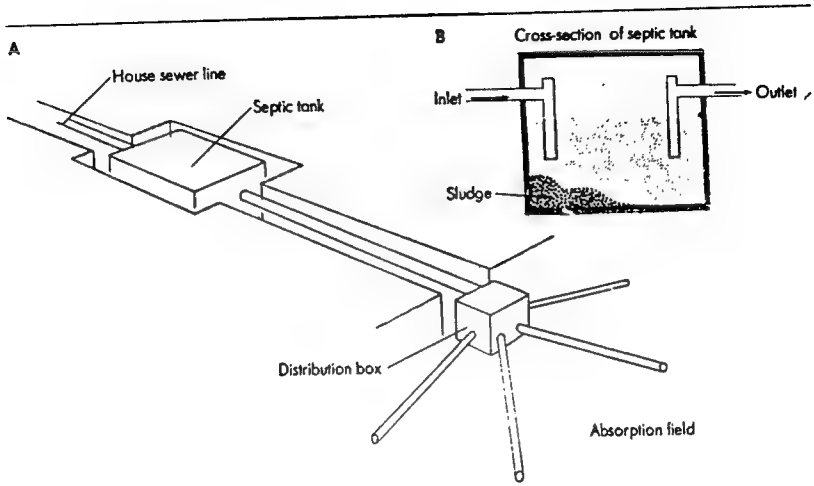
١٤ طرق التخلص من المخلفات Waste Disposal Procedures

هناك طرق عديدة لمعاملة المخلفات العامة والصناعية ، هذه الطرق تختلف تبعا لنوع وكمية المخلفات المراد معاملتها . وقد تتضمن هذه الطرق اتباع معاملة مفردة أو مزج عدد من المعاملات المختلفة . وعموما يمكن تقسيمها الى ملو، هضم المادة العضوية الهوائية واللاهوائية .

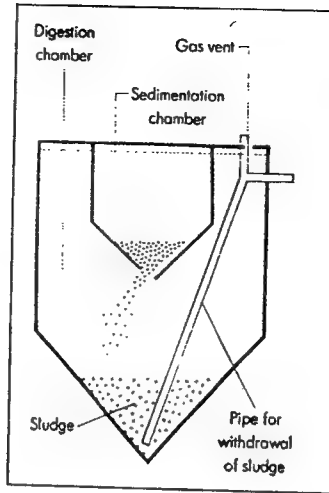
1.4. طرق الهضم اللاهوائية :

وهذه تعتمد على استخدام أحواض لاهوائية **Anaerobic Tanks** مختلفة لانواع اذ يتم فيها تركيد وتحلل وتخمر المادة العضوية وقد يعقب ذلك فيما بعد نوع من المعاملة الهوائية . ومن امثلة هذه الاحواض هي احواض التصفين **Septic Tanks** واحواض ايمهوف **Imhoff Tanks** واحواض هضم الوحل **Sludge Digestion Tanks** . تستخدم هذه الاحواض لهضم المسود العضوية البسيطة او المعقدة الى جزيئات عضوية بسيطة وغازات تخمر . وقد تستخدم مع اية معاملة اولية او بدونها في حوض التركيز الابتدائي للمياه او المواد المتخلفة .

وحوض التصفين **Septic Tank** (الشكل 1.13) هو حوض صغير منقلق له فتحة تهوية لهروب غازات التخمر وليس له استخدام كبير في الصناعة في الوقت الحاضر . والمادة العضوية الأكثر مقاومة والتي تصبح مثبته خلال التخمر وتصلد نوعا ما مقاومة لهضم اخر بواسطة الاحياء المجهرية اللاهوائية ، تتجمع كوحل في قاع الحوض ، حيث تؤخذ وتخفف وتطحن ومن ثم تستخدم في التربة كسماد في حين تبقى المياه المتدفقة من حوض التصفين هذا محتوية على كلا المركبات العضوية الذائبة والمعلقة القادرة على دعم نمو الاحياء المجهرية الهوائية غير ذاتية التغذية



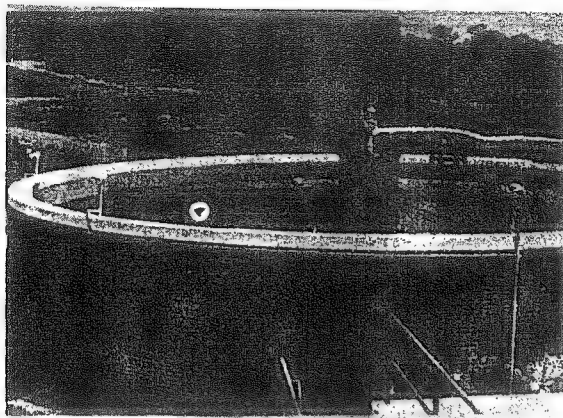
الشكل (1.13) . تصميم لحوض التعتن الخاص بالتخلص من المخلفات .
(حيث A : التصميم الاجمالي للنظام و B : مقطع عرضي للحوض)



شكل (2.13) حوض ايمهوف ذو الحجرة المزدوجة

وبالتالي فإن هذه المياه لا يمكن اضافتها الى جسم الماء الرئيسي في الانهار او البحيرات - لذلك يجب ان يعامل هذا الماء المتدفق معاملة اضافية بواسطة الاكسدة الميكروبية الهوائية ، وغالبا ما ينشر على التربة او الرمل ، رغم أن ذلك يؤدي الى خفض سريع في مسامية الرمل بواسطة الجوامد المعلقة في الماء .

ويختلف حوض ايمهوف Imhoff Tank (الشكل 2.13) عن حوض التمرن في تصميمه وحجمه ولكنه يعمل بنفس الطريقة وبالتالي فإنه قليل الاستخدام في وقتنا الحاضر في المعاملة البيولوجية للمياه المتخلقة - وكذلك يؤخذ الوحل لمثبت واننتج من حوض ايمهوف وينخف ليستخدم كسماد - ومع ذلك تكون المياه المتدفقة بكميات كبيرة جدا بحيث لا يمكن اضافتها للتربة ، لذا فإنها تحتاج الى معاملة بيولوجية هوائية أخرى كتلك المتبعة في المرشح البطيء التقطر .
Trickling Filter
اما حوض هضم الوحل Sludge Digestion Tank (الشكل 3.13) فإنه يعمل بنفس طريقة حوض ايمهوف ولكن بكفاءة أعلى ، ويستخدم للهدم أو الهضم اللاهوائي للمخلفات المترسبة أو الطافية والتي فصلت عن المياه المختلف الخاضعة للمعاملة الهوائية - ويسخن حوض هضم الوحل للحفاظ على درجة حرارة



شكل (3.13) - حوض هضم الوحل لا هوائيا

ثابتة كما تمزج مكونات الحوض • ويطفو رأس الحوض على الماء ليلائم التغيرات في أحجام السائل ويساعد في المحافظة على الظروف اللاهوائية • ويتم جمع غازات التخمر ، المتألفة أساسا من الميثان ، من أحواض هضم الوحل وتحرق عند استخدامها كوقود • في حين يؤخذ الوحل المهضوم والذي تم تثبيته ويخفف لاستخدامه كسماد •

2.4 طرق الهضم الهوائية

في هذه الطرق تعرض المخلفات أو المياه المتخلفة إلى تهوية تتفاوت بين معتدلة إلى عالية للحفاظ على تأييض هوائي نشط لتلك الأحياء المجهرية المحللة للمادة العضوية المتخلفة • وكنتيجة لاستخدام أحياء مجهرية هوائية فإن المادة العضوية المتخلفة تتحلل تماما وبسرعة أكبر من تلك المتحصل عليها بواسطة الأحياء المجهرية اللاهوائية •

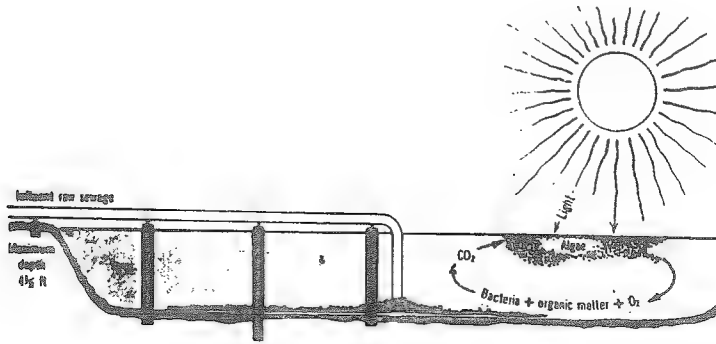
وعادة تجري هذه المعاملة الهوائية للمخلفات الصناعية أو العامة بإحد نظامين هما : ترسبات البطيئة التقطر **Trickling Filters** أو الوحل المنشط **Activated Sludge** ، وإن كانت طريقة برك الأكسدة **Oxidation Ponds** تستخدم في بعض الأحيان •

إن بركة الأكسدة **Oxidation Pond** (أو بركة تثبيت المخلفات) كامر

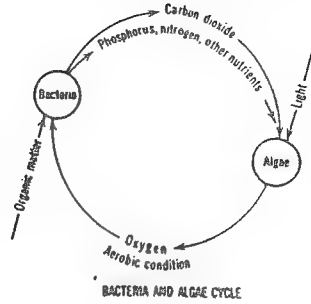
مبين في الشكل (4.13)

هي جسم مائي كبير ضحل عمقه يتراوح بين 60—120 سم يتم فيه إفراغ المياه المتخلفة في نقطة مفردة عند حافته أو وسطه على سبيل المثال • وتعمل الرياح على مزج محتويات هذا الحوض الضحل، وبالتالي يكون الأوكسجين متيسرا للأحياء المجهرية بواسطة الانتشار من الهواء إلى المياه الضحلة وكنتيجة لعملية التخليق الضوئي التي تقوم بها الأشنيات • ويتم إفراغ المياه المتدفقة من هذه البركة في جدول أو فسي سلسلة من برك الأكسدة المتتالية ، ولذلك يجب تنظيف هذه البركة على فترات لازالة الجوامد التي تتجمع أو تتكدس في القعر ، وإلى وقتنا الحاضر تستخدم هذه البركة أساسا في المعاملات المحدودة النطاق لمياه المجاري والمخلفات الصناعية في المناطق التي تتيسر فيها أراضي رخيصة •

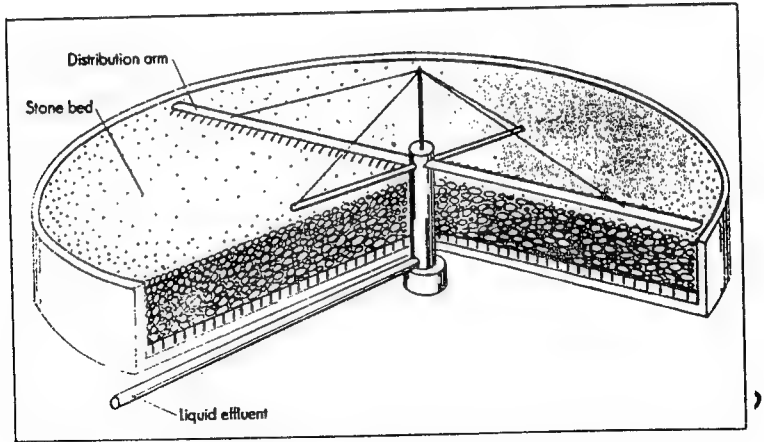
بينما يستخدم في المرشح البطيء النقطر **Trickling Filter** كما في الشكل (5.13) طبقة من الصخور الغضنة أو الكبيرة الحجم مملوءة على بعض الصخور الفردية ذات القطر تتراوح بين 5-10 سم ويترشح عمق طبقة الصخر بين 2-3 متر • وترش المياه المتخلطة فوق طبقة الصخر على فترات منتظمة وباستمرار باستخدام فتحات ثابتة **fixed nozzles** أو فتحات دشة على ذراع



Initial requirements
 Light intensity
 Temperature
 Partial pressure of CO_2
 O_2 pressure



الشكل (4.13) • التخلص من المخلفات بواسطة طريقة بركة تثبيت المخلفات •



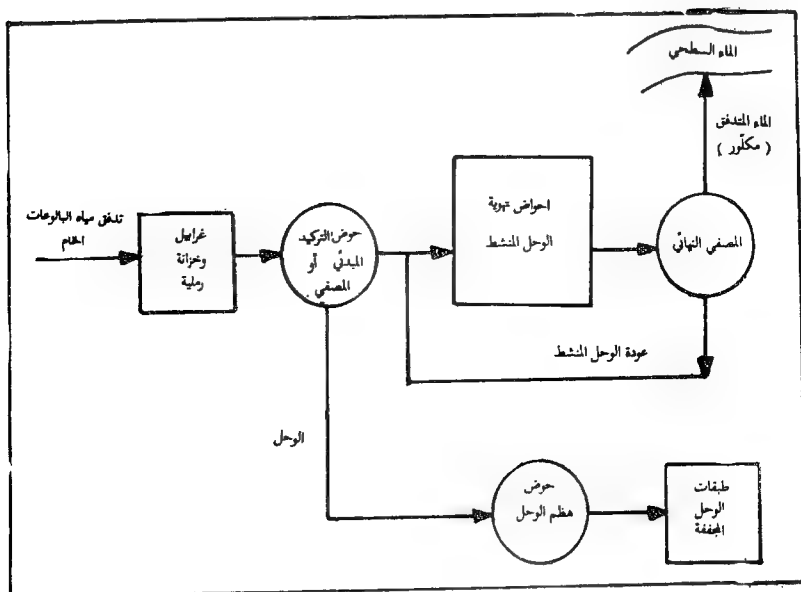
الشكل (5.13). مقطع لمرشح بطيخ التقطر Trickling Filter
 (يظهر في الشكل ذراع التوزيع distribution arm التي توزع المخلفات
 السائلة ، وطبقة المرشح التي يتخللها السائل stone bed ، وأخيرا مجرى
 تجمع السائل المترشح liquid effluent)

يدور افتيا • وقد تتم تهوية المياه قبل رشها بالرغم من حدوث بعض التهوية خلال عملية الرش • وتلتصق الاحياء المجهرية بالصخور وتنمو على سطحها مكونة طبقة رقيقة لزجة من الغلايا الميكروبية • ويتألف هذا النمو بالدرجة الرئيسية من البكتريا غير ذاتية التغذية وذاتية التغذية والبروتوزوا • وتقوم هذه الاحياء بمهاجمة المادة العضوية الفردية أو الذائبة في المياه المتخلطة مع ترشيح الماء الى الاسفل خلال طبقة الصخر • لذلك يجب الحفاظ على الظروف الهوائية في المرشح البطيء التقطر حتى في قاع المرشح • وهكذا فان هذا المرشح يتشبع بالماء باستمرار ويصبح لا هوائيا بسرعة بسبب احتياجات الاحياء المجهرية العالية للأكسجين • وفي بعض الاحيان نتيجة لطول فترة استخدام المرشح فان النمو الميكروبي ينسلخ من الصخور ويظهر معلقا في المياه المتدفقة من قاع المرشح • ولمعالجة ذلك فان المياه المتدفقة من المرشح تمرر ببطء على حوض تركيد نهائي لازالة الغلايا الميكروبية المنسلخة أو أية بقايا أخرى قبل معاملتها بالكلور والتخلص منها في جدول أو أي جسم مائي اخر •

أما طريقة الوحل المنشط **Activated Sludge** فانها تعد من الانظمة المالية الكفاءة للمعاملة البيولوجية الهوائية للمخلفات العامة والصناعية • ومياه البالوعات أوالمجاري هي محلول مائي مخفف للمواد العضوية وغير العضوية المحتوية على جوامد معلقة سوية مع مجموع مختلط من الاحياء المجهرية الاتية من الفائط البشري والماء المترشح • وعادة يكون الهدم والتحلطيم الميكروبيولوجي لليوريا الى امونيا وثاني اوكسيد الكربون تاما تقريبا قبل ان تصل مياه البالوعات الى مصنع المعاملة أو المعالجة • وتحدد نسبة المادة العضوية الى النتروجين وإلى الفوسفور في المخلفات الى درجة كبيرة فيما اذا كانت هذه المخلفات مهله الانقياد للمعاملة البيولوجية • لذلك فان نسبة **BOD** : الفوسفور وكذلك نسبة **BOD** : النتروجين قدرها 1:150 , 1:30 على التوالي تمد مفضلة ويوصى بها للمعاملة بواسطة طريقة الوحل المنشط •

وتبدأ معاملة المياه المتخلطة بأمرارها على غرابيل كبيرة لازالة المواد العالقة الكبيرة الحجم واي حطام موجود في هذه المياه (الشكل 6.13) قبل دخولها مصنع المعاملة • ويتم سحق الجوامد المفصولة قبل إعادة دخولها الى الجدول الرئيس للمياه

المتخلّفة وبعد ذلك تمرر خلال خزانة رملية خشنة لترسيب الرمل والحبيبات الخشنة وجوامد المعادن الثقيلة . ويمرر معلق الجوامد الدقيقة والمواد الذائبة الى حوض تركيد ابتدائي لفترة قصيرة من الزمن وذلك لترسيب الدقائق الثقيلة كوحل ويزال الوحل الغام دوريا من حوض الترسيب الى حوض التخمير اللاهوائي بواسطة الاحياء المجهرية اللاهوائية (حوض فضاء الوحل) حيث يعامل هناك على حدة . اما السائل الرائق فانه يدخل الى حوض التهوية المبتة حالته الغذائية ، اذا لزم



الشكل (8.13) . رسم تخطيطي لمصنع معالجة المخلفات بطريقة الوحل المنشط .

الامر ، باضافة النتروجين والفوسفات او اي مادة غذائية ضرورية اخرى قبل مزجه بلباح من الوحل المنشط . وهذا اللقاح هو كتلة متلبدة floe تتألف من خلايا مجموع مختلط من الاحياء المجهرية واساسا بكتريا غلامية نمت تحت ظروف هوائية

حيث تستخدم لبدء التخمر الرئيس تحت الظروف الهوائية ، ويفضل أن يكون ذلك بمساعدة تقليب ميكانيكي وتهوية اختيارية .

ويجب ان تكون **BOD** للمياه المتخلطة الداخلة الى حوض التهوية محددة بمستوى لينسجم مع معدل الامداد من الاوكسجين المذاب . لذلك فان معدلات متخلطة لهاقيم **BOD** تصل لفاية '3000-5000 ملغم / لتر تستخدم دائما في هذه العملية . ولكن المزج السريع للمادة المتخلطة الداخلة الى حوض التهوية تكون مفيدة في المحافظة على ظروف تخمر منتظمة .

يلبي ذلك نمو سريع للمجموع الميكروبي يصاحبه ازالة المادة العضوية الذائبة وغير الذائبة بواسطة الاكسدة وبواسطة الاندماج بالمواد التركيبية او المخزونة للخلايا وبواسطة الالتصاق على الكتل المتلبدة . ودائما يصاحب اطالة فترة التهوية تنفس مواد التفاعل الخلوية بحيث يبدأ التحلل الذاتي **Autolysis** والذي تكون محصولته خفض المجموع الميكروبي . ويسبب تكوين الزبد او الرهاوي التي تصود اساسا الى المواد البروتينية في المياه المتخلطة بعض المشاكل خلال هذه المرحلة .

وبعد ذلك تدخل المياه المتدفقة الى حوض تركيز ثانوي حيث يحدث ترسيب للوحل المثبت . وما ان يعامل المحلول الرائق الذي يترك حوض التركيز الثانوي بواسطة الكلور او ان تتم تهويته ثانية قبل التخلص منه كمحلول واطي **BOD** الى المياه السطحية في الجداول او الانهار او البحيرات .

ان حوض التهوية السابق توضحه في نظام الوحل المنشط يستقبل حمولة كبيرة جدا من المواد العضوية القابلة للتحلل عند مدخله ، وهذه المواد العضوية تتهدم بدرجة كبيرة في الوقت الذي تصل فيه المياه المتدفقة النهاية الاخرى من الحوض . وكنتيجة لذلك فان الاحتياج للاوكسجين المذاب يكون اكبر في بداية الحوض منه في نهايته وبالتالي فان الاحياء الجهرية عند طرف خروج المياه المتدفقة تكون عن الناحية الايضية اقل نشاطا وفعالية . ويمكن تصحيح هذا الوضع في نظام المزج التام **Complete Mixing** للوحل المنشط . ويختلف هذا النظام عن نظام الوحل المنشط السابق شرحه في ان الماء المتخلف ويدون امراره خلال حوض التركيز الابتدائي يستقدم في الحال خلال مياه الجوار الى حوض التهوية .

وهذا يؤدي الى احتياج منتظم للاوكسجين المذاب خلال المياه بحيث يحافظ على معظم خلايا الاحياء المجهرية في حالة فيسيولوجية متماثلة . ويكون مثل هذا النظام اكثر ثباتا ، وقادرا على معالجة التذبذبات الكبيرة في الحمولة ، وله قابلية أفضل في تهديم المركبات العضوية السامة والقابلة للتحلل . الا أنه في نفس الرقت تتكدس كميات كبيرة من الوحل المنشط في هذا النوع من الاحواض وكذلك قد لا تتأكسد المركبات اللاعضوية تماما .

5 . بعض الاعتبارات المهمة في طرق التخلص من المخلفات

لا تزال طرق معالجة المخلفات الصناعية والعامة دون المستوى المطلوب . لذلك ينبغي السيطرة عليها بمناية لكونها تظهر أخطام مشابهة لتلك العمليات الميكروبية . وعلى سبيل المثال ، تتضمن الاحياء المجهرية النشطة مجموعا ميكروبيا طبيعيا وبالتالي يمكن لهذا المجموع ان يتذبذب بصورة كبيرة في تركيبه النسبي . ومن الواضح ، أن بعض الاحياء المجهرية تكون اكثر نشاطا وفاعلية من احياء اخرى في تحليل المواد المتخلفة .

وفي هذه الحالة يجب مراقبة الـ pH خلال المعاملة اذ أنه يؤثر في أنواع الاحياء المجهرية ونشاطاتها في تحليل المادة العضوية . وأيضا ، باستثناء أحواض مضم الوحل ، لا يمكن التحكم بدرجة حرارة التحضين كما هو الحال في التخمر الصناعي وذلك لكون امكانيات معالجة المام المتخلف كبيرة ومعرضة للجو . وبالتالي من الضروري اتباع أكثر من طريقة واحدة من طرق معالجة المخلفات أو استخدام أحواض احتفاظ **Holding Tanks** عندما تؤدي التغيرات في الجو أو في النشاط الميكروبي أو في حمولة نظام المعاملة الى خفض أو عدم كفاءة معالجة المياه المتخلفة .

ان المخلفات الصناعية أو العامة التي يكون تخللها البيولوجي ضعيفا أو أن تكون سامة للاحياء المجهرية تحدث مشاكل دائمية وتحتاج الى المزيد من الدراسة . وكذلك تحتاج السمة أو القدرة التسميدية للمياه المتدفقة والناتجة من معالجة المخلفات الى دراسات من أجل استخدام هذه المياه بصورة اكثر كفاءة بدلا من أن تسبب في

نمو الادغال المائية والطحالب في الاجسام الطبيعية للماء • وكحل جزئي ، تجرى دراسات مختلفة لتحديد مدى امكانية استخدام هذه المياه في ري الاراضي الزراعية والفايات • وكذلك يجب عمل دراسات اضافية تتضمن ازالة الفوسفات من هذه المياه بواسطة المعاملة الكيماوية الثلاثية ، ومعاملة كيماوية وبيولوجية مدمجة • واستخدام برك الاثنتان في ازالة هذه الاملاح •

ويبين الجدول (1.13) عملية الهدم الميكروبي للمكونات العضوية المختلفة الموجودة في المياه المتخلقة والتي ينبغي معالجتها قبل التخلص منها • في حين يوضح الجدول (2.13) مقارنة لكفاءة كل طريقة من طرق معاملة المياه المتخلقة •

المجول (1.13)

منخطط عام لعملية الهدم الميكروبي للمكونات المضوية في المياه المختلفة

SUBSTRATES	ENZYMES OF MICROORGANISMS	REPRESENTATIVE END PRODUCTS	
		Anaerobic Conditions	Aerobic Conditions
Proteins and other organic nitrogen compounds		Amino acids Ammonia Hydrogen sulfide Methane Carbon dioxide Hydrogen Alcohols Organic acids Indole	Amino acids Ammonia → nitrites → nitrates Hydrogen sulfide → sulfuric acid Alcohols Organic acids → $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$
Carbohydrates		Alcohols Fatty acids } → $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ Carbon dioxide Hydrogen Alcohols	
Fats and related substances		Fatty acids Neutral compounds Fatty acids + glycerol Carbon dioxide Hydrogen Alcohols Lower fatty acids	Alcohols Lower fatty acids } → $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$

الجدول (2.13)

مقارنة لكفاءة الطرق المختلفة لمعالجة المياه المتخلفة •

METHOD	PERCENTAGE OF REMOVAL OF SUSPENDED SOLIDS	GALLONS OF SLUDGE PER MILLION GALLONS OF SEWAGE	PERCENTAGE OF REMOVAL OF		
			Bacteria	BOD	Oxygen Consumed
Plain sedimentation	40-95	1,000-5,000	40-75	30-35	
Chemical precipitation	75-95	5,000-10,000	80-90	60-80	
Septic tank	40-75	500-1,500	40-75	25-65	
Imhoff tank	35-80	250-750	40-75	25-65	20-50
Intermittent sand filter	95-98		98-99+	70-96	70-95
Contact bed	55-90		50-75	60-80	30-55
Trickling filter	0-80	250-750	70-85	60-90	35-60
Activated sludge	70-97	10,000-30,000	95-99+	70-96	50-85

الفصل الرابع عشر

اقتصاديات التخمير Fermentation Economics

1. مقدمة
2. حاجة السوق للناتج التخميري
3. تكاليف الانتاج
 - 1.3 تكاليف بيئات الانتاج
 - 2.3 تكاليف العمال
 - 3.3 تكاليف فترة التخمير
 - 4.3 تكاليف التلوث والتقييم
 - 5.3 تكاليف استرجاع الناتج
 - 6.3 تكاليف نقادة الناتج
 - 7.3 تكاليف النفقات العامة
 - 8.3 تكاليف التخلص من المخلفات
 - 9.3 تكاليف الابحاث
 - 10.3 تكاليف النفقات الرئيسية
 - 11.3 وضع براءة الاكتشاف (حق الامتياز)
4. تصميم العملية التخميرية

تعد التخميرات الصناعية من المشاريع التجارية المدرة للمال والمنافسة فيها شديدة وكبيرة . وتقوم أكثر من مؤسسة صناعية بأجراء نفس التخمير وحسب باستخدام نفس الكائن الحي المجهرى . وكذلك قد يدخل ناتج التخمير الى المنافسة في السوق المفتوحة مع ناتج مسائل منتج بعملية غير تخميرية أو ميكروبية . ولكي يكون التخمير الصناعي منافسا ينبغي ان يعطي انتاجا عاليا باقل كلفة ممكنة وكذلك يجب ان يكون استرجاع النواتج بصورة قابلة للبيع بطريقة حالية الكفاءة ولا تضيف كثيرا الى تكاليف التخمير .

وتعد القدرة على انتاج منتج تخميري معين بكميات كبيرة جزءا من متطلبات نجاح العملية التخميرية التجارية فحسب . لذلك ينبغي ان يباع الناتج بسعر معين يفي بمتطلبات استرجاع تكاليف انتاجه زائدا ربحا مقبولا . ولبيع اي ناتج تخميري لا بد من وجود طلب معين او سوق معينة لهذا الناتج . وبرز هنا احتمالان ، الاول يتمثل بالوجود الفعلي لسوق طلب هذا الناتج بسدليل ان نفس او اي ناتج آخر شبيه به سبق بيعه من قبل منتجين اخرين . والثاني ان الناتج التخميري حديث الاكتشاف والذي لم يسبق عرضه وبيعه تجاريا (مثلا مضاد حيوي جديد او مادة منكهة للغذاء) سيحتاج الى ايجاد سوق له .

اذن كيف يمكن لناتج تخميري ان يجد طريقه للنجاح واستخدام ويدخل المنافسة مع نواتج اخرى مماثلة له سواء كانت منتجة بطريق تخميري او غير تخميري ؟

الاجابة على هذا السؤال لا بد ان نضع نصب اذهننا عدة اعتبارات مهمة منها حاجة السوق لذلك الناتج وتكاليف التخمير المختلفة سواء تلك المتعلقة بعملية التخمير نفسها او بالبيئات المستخدمة او بطرق الحصول على الناتج ووسائل المحافظة عليه وطرق تطويره بالاضافة الى اعتبارات اخرى .

2. حاجة السوق للناتج التخميري

ان حاجة السوق تختلف من ناتج لاخر وحسب فائدته واستخدماته . ففسي

بعض الاحيان لا يمكن طرح ناتج تخمري معين في السوق اذ كانت استخداماته قليلة وبالتالي سيكون الطلب عليه قليلا او غير موجود . ومن الواضح ان مثل هذا الناتج غالبا ما يصعب تغطية براءة اكتشافه لقلة فائدته . وبالتالي فإن نواتج تخمر من هذا النوع يتم دراستها بتوسع من قبل الشركة التخميرية المنتجة لايجاد استخدامات جديدة . وقد ترسل عينات من هذه النواتج الى شركات اخرى على اساس تجريبي للاختبار ولايجاد مدى امكانية اكتشاف او تطوير طرق لاستخدام هذه النواتج .

وفي بنى النواتج التخميرية يكون السوق موجودا بالفعل لكون الناتج قد سبق بيعه للجمهور الذي وجد فيه تقبلا . واذا كان بالامكان الحصول على هذا الناتج أما بواسطة التخمر أو بالتخليق الكيميائي أو بالاستخلاص من مصادر طبيعية ، فمن الواضح أن طرق التخمر ستتدخل المنافسة مع الطرق الاخرى . لذلك اذا ارادت مؤسسة صناعية تخميرية دخول السوق بناتج تخمري له مثيل ينتج بطريقة اخرى ، ينبغي أن تكون تكاليف الانتاج واطلة لكي يباع بسعر مغارب أو اقل من السعر السائد في السوق .

وكذلك قد يستخدم ناتج التخمر داخليا بواسطة المؤسسة الصناعية ولا يباع ابدا بصورة مباشرة للجمهور . وعلى سبيل المثال ان شركة تصنيع وتبييض الاسبرين ، عليها أن تنتج حامض الساليسيليك بواسطة تخمر النشألين ، يلي ذلك تحويل كيميائي لحامض الساليسيليك الى الاسبرين . وكطريقة بديلة ، فقد يباع ناتج التخمر مباشرة الى مؤسسة صناعية اخرى وهي بدورها تقوم بالتحويل الكيميائي لناتج التخمر قبل بيعه للجمهور .

وايضا لا يجوز أن يكون ناتج التخمر المعروض في السوق ذا تكاليف عالية لا يتحملها السوق حتى في حالة عدم وجود ناتج مماثل منافس له . فالطلب على نواتج تخميرية معينة قد يعمل على تحميلها اثمانا اعلى كثيرا من الطلب على نواتج تخميرية اخرى . وعلى سبيل المثال تمد المضادات الحيوية للاستخدامات الطبية غالية الثمن مقارنة بالخل المنتج بالتخمر . وهذا برهان على الاختلاف بين ناتج تخمري منتج بكميات قليلة نسبيا ولكن له سعر عال وبيع عال بالنسبة للوحدة

المباعة ، وبين ناتج تخمري منتج بكميات كبيرة وبكلف انتاج وسعر بيع وربع
منخفض .

ولا ينب عن البال أن أي ناتج تخمري قد يكون وحيدا في السوق المحلية
وبعيدا عن المنافسة مع النواتج الاخرى وذلك لان بعض الدول تشرع قوانين لحماية
انتاجها الوطني لمنع مزاحمة الانتاج المستورد لها . ولكن في السوق الخارجية قد
تدخل نواتج تخمرية عديدة من مؤسسات صناعية في دول مختلفة في منافسة
شديدة مع بعضها البعض . وهنا تدخل اعتبارات عديدة تحدد من كلفة الناتج
التخمري المعروض ، منها أجور المال وتكاليف الانتاج ومشاكل التضخم التي
تختلف من دولة لاخرى .

3 . تكاليف الانتاج

يرتبط الوضع الاقتصادي لناتج تخمري معين بتكاليف انتاجه وتوزيعه .
ويمكن تصنيف هذه التكاليف الى فئات متعددة منها :-

1.3. تكاليف بيئات الانتاج

ان تكاليف بيئات الانتاج تتضمن جزءا مهما من التكاليف الكلية للتخمر
الصناعي . وتمتاز بيئات التخمر الصناعي بمحتواها المالي من المواد المحتوية على
الكربون والنيتروجين . فالصدر النشوية للبطاطا والحبوب ، والمولاس ، وماء
نقيح الذرة ، والدقيق المنزوع الدهن لقول الصويا وبذور القطن والى ما شابه ذلك
لها استخدامات كبيرة كمواد غذائية للتخمر ، وهذه المواد هبارة عن نواتج أو
نواتج ثانوية زراعية وتكون معرضة لتذبذبات الاسعار المرتبطة بصور العرض
والطلب للاقتصاد الزراعي . علاوة على ذلك فان تيسر هذه المواد واسعارها تتاثر
كثيرا بالسياسات الحكومية للاسعار السائدة للمنتجات الزراعية . فاذا ارتفع
سعر منتج زراعي معين مستخدم كمادة اولية للتخمر ، ينبغي بذل كل المحاولات
لايجاد بدائل قليلة التكلفة لتحل محله . ولا ينب عن أذهاننا أن استخدام بيئة
تخمر بديلة قد يستلزم في بعض الاحيان استخدام كائن حي مجهري مختلف ليقوم
بالتخمر .

ولا تشكل البيئة ومكوناتها مصدرا وحيدا لامتحانات الكلفة ، وإنما قد تحتاج بعض البيئات الى معاملات أولية لجعلها صالحة للنمو الميكروبي أو لتكديس ناتج التخمر ، وبالتأكيد أن مثل هذه المعاملات تضيف الى كلفة الانتاج . مثلا قد يتطلب الامر ازالة بعض المادن باستخدام مبادلات أيونية ، وكذلك قد لا تكون المصادر الكربوهيدراتية المقدمة متاحة للكائنات الحية المخمرة للسكريات الاحادية وهذا يستلزم تحويل هذه المصادر الكربوهيدراتية الى صور أبسط أكثر تيسرا للاحياء المجهرية ، وكذلك تعديل ال pH باستخدام الحامض أو القلوي خلال مراحل الانتاج ، واستخدام وسائل وطرق لمنع تكوين الرغاي خلال التخمر ، وأخيرا وسائل استرجاع الناتج التخمري .

لذلك يجب اختيار بيئة تخمر مناسبة للحصول على أعلى استرجاع ممكن للناتج التخمري .

2.3. تكاليف العمال

ويقصد بها تكاليف العمالة المبذولة في معالجة المزارع واللقاح والانتاج واسترجاع الناتج والتنقية والحفاظ على مقام الناتج ، والتبئية ، وانتاج البخار ، وصيانة المعدات ونظافتها ، والسيطرة النوعية والادارة والى ما شابه ذلك . وتتفاوت هذه التكاليف من تخمر لآخر ومن بلد لآخر ، وقد تكون كبيرة في حالة التخميرات التي تستغرق وقتا طويلا .

3.3. تكاليف فترة التخمر

من الواضح أن تكاليف التخمر القصير الامد هي أقل من التخمر الطويل الامد . وهذا يعد صحيحا في كلا صليتي بناء اللقاح والانتاج . اذ يؤدي وقت تخميري قصير الى استخدام معدات التخمر بشكل متكرر في اجراء تخمرات أكثر خلال نفس الفترة الزمنية . وخاصة اذا علمنا أن نهاية تخمر معين يمضي تيسر المعدات الملحقة به وبذلك يمكن افراغ حوض التخمر نفسه وتنظيفه لاعادة استخدامه ما دام انشغال هذا الحوض يؤدي الى انشغال كافة المعدات الاخرى وبالتالي لا يمكن اجراء تخمر آخر جديد .

4.3. تكاليف التلوث والتقييم

ان التلوث بأكثر من الحد الأدنى يسبب دائما في تكاليف اضافية للتخمر ، ما دامت معظم التخمرات تتلف عند حدوث تلوث خطير وبالتالي يجب نبد أو طرح البيئة . ولكن حدوث تلوث معتدل قد لا يكون خطيرا بدرجة تقضي بنبد بيئة التخمر ، رغم ان نواتج التخمر قد تتأثر بشكل جدي . وتكون بعض التخمرات اكثر عرضة للتلوث من غيرها ومثل هذه التخمرات هي تلك التي تعاني من مشاكل الرياوي ، أو فترة تحضين طويلة ، أو منافسة ضعيفة لكائن التخمر مع الملوثة بالنسبة للمواد الغذائية في البيئة أو ان يكون ناتج التخمر نفسه سهل التهدم أو يتغير كيميائيا بواسطة الاحياء المجهرية الملوثة .

• والتخمرات التي لا تسمح بالتصادياتها بتقييم البيئة يتم دائما تزويدها بطريقة معينة ببدلة لمقاومة التلوث منها خفض pH البيئة ، أو بمادة تفاعل ذات قدرة ضعيفة للمهاجمة من قبل الملوثة ، أو معالجة جوارية جزئية وأخيرا استخدام مواد كيميائية معينة لاحالة نمو الملوثة . ورغم ان هذه الطرق السابقة لا تغطي ضمانا كاملا في منع التلوث فانها بالتأكيد تضيف الى كلفة التخمر وبالتالي يجب وضعها في الاعتبار .

بالاضافة الى ما ذكر ، فان التخمرات التي تستخدم احياء مجهرية غير ثابتة وراثيا قد تضيف تكاليف مشابهة للتكاليف المسببة بواسطة الملوثة الاخرى .

5.3. تكاليف استرجاع الناتج

ان قدرة أي تخمر على اعطاء ناتج عال وكذلك السماح بالاسترجاع الكفوء لهذا الناتج تعد من الامور المهمة والرئيسية في التصدييات التخمر ، مما يسمح للتخمر بان يحافظ على وضعه التنافسي في السوق المفتوحة . وبالتالي ، ان لم يكن ناتج التخمر محميا باحتكار براءة الاكتشاف ، فمن المحتمل ان تتطلب المحافظة على وضع السوق التنافسي الى استمرار برنامج البحث والدراسة من أجل زيادة نواتج التخمر وطرق الفصل لاسترجاعها .

6.3. تكاليف نقاوة الناتج :

تسوق النواتج التخمرية عادة بمستويات نقاوة مختلفة • فمثلا بعض تحضيرات المضادات الحيوية ينبغي أن تكون على درجة عالية من النقاوة والعمق وخالية من المواد المولدة للحمى Pyrogens • في حين أن بعض تحضيرات المضادات الحيوية تظل بصيرتها الخام مع الاعلاف وعليه فانها لا تتطلب هذه الدرجة من النقاوة • لذلك فإن مستويات النقاوة المطلوبة في الناتج التخمري تضيف الى تكاليف الانتاج كلنا متفاوتة تبعا لدرجة نقاوة الناتج • وهذه التكاليف لا ترتبط فقط بكلفة اجراء الخطوات المختلفة من تنقية الناتج دائما ايضا مع حقيقة وجود فقد بسيط او كبير في ناتج التخمر قد يحدث في كل خطوة من خطوات عملية التنقية •

7.3. تكاليف النفقات العامة

ويشار إليها بالنفقات المبدولة في ادارة الاعمال • وهذه تشمل نفقات الياجار والضرائب ، والتأمين ، والاضاعة ، والحرارة ، والحسابات ، ونفقات مكتبية اخرى وانخفاض القوة الشرائية للعملة والى ما يشابه ذلك وينبغي ان تدخل هذه النفقات ضمن التكاليف الكلية لناتج التخمر ، ولكنها لا ترتبط او تتذبذب الى اي مدى مع تخمر معين •

8.3. تكاليف التخلص من المخلفات

تتفاوت التكاليف المصروفة في التخلص من المخلفات كثيرا وتدخل ضمن تكاليف ناتج التخمر • وهذه تعتمد اساسا ما اذا كانت المخلفات ستعامل مع المخلفات العامة او ان المصنع نفسه يقوم بمعاملة مخلفاته بنظام خاص مرتبط به • ففي بعض المناطق لا تسمح السلطات بتصريف هذه المخلفات الصناعية الى مصادر المياه الطبيعية حفاظا على البيئة من التلوث ، لذلك تحكم عملية التصريف والتخلص من هذه المخلفات لوائح وقوانين معينة قد تشترط على المؤسسة الصناعية المنتجة معاملات معينة تضيف تكاليف كبيرة على ناتج التخمر •

وكما سبق ذكره (في الفصل الثالث عشر من هذا الباب) فإن مخلفات التخمير الفعلي ، ومخلفات عمليات استرجاع الناتج علاوة على مخلفات مياه التنظيف والتبريد •

وفي بعض الاحيان قد يتم استرجاع بعض النواتج الثانوية من بيئات التخمير بعد الحصول على الناتج الرئيس ، وهذا الاسترجاع لهذه المواد يقلل من تكاليف النسيج الرئيس • فمثلا يسترجع الرايبوفلائين من بيئة تخمر الاسيتون - البيوتانول او ان الحبوب المستهلكة اثناء الاستخلاص في صناعة البيرة يتم فصلها بالترشيح أو بالطرد المركزي ومن ثم تجفف وتباع للمواشي بينما تفصل الخميرة بعد انتهاء تخمر البيرة وتعامل ببعض المعاملات لازالة المواد المرة منها ومن ثم تستخدم كعلف للحيوانات •

9.3. تكاليف الابحاث

تدخل التكاليف المبذولة على الابحاث لايجاد نواتج جديدة أو لتطوير أو تحسين ناتج موجود بالفعل ضمن التكاليف الكلية لناتج التخمير • وايضا تقوم المؤسسة الصناعية باجراء ابحاث عديدة للحفاظ على وضعها التنافسي التجاري لعملية تخميرية معينة •

10.3. تكاليف النفقات الرئيسية

قد يحتاج تخمر جديد الى اتفاق رأس مال قبل بدء الانتاج التجاري ومن هذه الناحية فان متطلبات نفقات رأس المال ترتبط بمعدات التخمير والامكانيات الاخرى • وتكون هذه الاجهزة غالية وتستخدم باستمرار في التخمرات تحت الانتاج • وبالتالي يتطلب التخمير الجديد الى احتلال المعدات الموجودة للتخمرات القائمة أو تصميم معدات اضافية • ونفس الشيء يمكن أن يقال عن معدات استرجاع الناتج وتنقيته • وكذلك قد يستلزم التخمير الجديد المتطور تركيب معدات تخمر غير اهيادية أو حديثة التصميم ومن الواضح ان تركيب مثل هذه المعدات يضيف كثيرا الى تكاليف التخمير وهذا بدوره ينمكس على ناتج التخمير ووضعه في السوق •

11.3. وضع براءة الاكتشاف (حق الامتياز)

ان وضع براءة الاكتشاف لعملية تخمرية او لنتاج تخمري يؤثر بشكل ملحوظ على المائد أو الربح . وبالتالي فان وضع براءة الاكتشاف يسمح بتحصيل كلف عالية على الناتج التخمري مادام السوق يستطيع تحمل ذلك دون النظر الى المنافسة التجارية الكبيرة . لذلك فان الوضع الجيد لبراءة اكتشاف يوفر جهدا أكبر في تكاليف الاسترجاع وفي الحصول على ربح معقول .

وتكون تكاليف الحصول على براءة الاكتشاف منخفضة نسبيا ، ولكنها تصبح مكلفة اذا حدثت مغالطات ، وبالتالي قد يترتب على المخالف تكاليف التضسر والقضام .

في انتاج وتسويق ناتج التخمير . وقد يتم ترخيص براءة الاكتشاف ومنح امتياز استخدامهما من قبل شركات اخرى حتى لتلك المنافسة . وقد لا تكون براءة الاكتشاف مربحة لدرجة كبيرة اذا كان ناتج التخمير يشفي بعض الامراض وخاصة السرطانية لذا قد يضع المكتشف سعرا من ناتج التخمير يسمح بالحصول على ربح معين يغطي بتكاليف اكتشاف وانتاج هذا الناتج .

وفي المقابل قد تكون بعض براءات الاكتشاف قليلة الفائدة لعاملها . اذ قد لا يتميز حامل البراءة رأس المال والامكانيات المناسبة لانتاج وتسويق ناتج التخمير ، او ان تكون المادة الاولية للتخمير مكلفة جدا بحيث لا تسمح لحامل البراءة من دخول المنافسة بنجاح في السوق المفتوحة ، او أن هناك من يقوم بانتاج وتسويق مشل هذه المواد الاولية ، او من له هذه المواد الاولية كنواتج ثانوية لعمليات اخرى او من يكون وضمه افضل من حامل البراءة في استغلالها . وفي هذه الحالات، فانه من الافضل لحامل البراءة أن يرخس أو يبيع براءة الاكتشاف ، أو أن يبيع حقوق اكتشافه .

لذلك فان تكاليف اكتشاف وتطوير عملية تخمرية تضاف الى كلفة ناتج

التخمير .

تقييم العملية التخمرية

يطلب التقييم الاقتصادي لاية عملية تخمرية تقييم كافة الاعتبارات المتعلقة

بالخمر تحت ظروف السوق الحالية والمستقبلية . وينبغي إجراء هذا التقييم في وقت مبكر خلال عملية التطوير وعند وقت التقرير بدخول السوق بناتج الخمر المنتج . وأيضاً ينبغي احاطة تقييم العملية فيما بعد خلال الانتاج التجاري . ولبلوغ هذه التقييمات من الضروري تقدير التيسر العالي والمستقبلي ومصر مواد تفاصيل الخمر ، وتكاليف الصالة والتلفعات العامة ، وطلب السوق والمنافسة ، وامكانيات تحسين الناتج واسترجاعه ، والقدرة والامكانية لاستيفاء حاجة السوق من الناتج وكذلك من الضروري دواحة كل التكاليف الحالية والمستقبلية والربح الموهوب ومصر بيع الناتج التي يستطيع السوق تحمله . وتوضع كل هذه النقاسط في الاعتبار وتستخدم لتقرير مدى امكانية انتاج ناتج الخمر وييمه بسعر مقبول ويعطي مستوى ممينا من الارباح . وإذا كانت النتيجة سلبية ، فمليه ينبغي التخلي عن العملية وإجراء أبحاث أخرى ليعلمها الاقتصادية ، او ترخيص او بيع برادة الاكتشاف لمن له القدرة على انتاج وتسويق ناتج الخمر بمستوى مقبول من الربح .

مراجع الباب الثاني

- Alexopoulos, C.J. (1962) — Introductory mycology, 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Alexopoulos, C.J., and Bold, H.C. (1967) — Algae and fungi. Macmillan Press Ltd., New York.
- Ali Khanian, S.I. (1962) — Induced mutagenesis in the selection of microorganisms. *Adv. Appl. Microbiol.*, 4, 1—50.
- Allen, L.A. (1964) — The biochemistry of industrial microorganisms. *Chem. Ind. May* 23, p. 877-880.
- American Type Culture Collection (1972) — Catalogue of strains. 10th ed. 312 pp. Rockville, Md. 20852.
- Amerine, M.A., and Ough, C.S. (1972) — Recent Advances in enology. *CRC Critical Review in Food Technology*, 2 (4): 407-515.
- Amerine, M.A., and Ough, C.S. (1980) — Method of analysis for musts and wines. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Bhattacharjee, J.K. (1970) — Microorganisms as potential sources of food. *Adv. Appl. Microbiol.*, 13, 139-161.
- Blakebrough, N. (1967) — Biochemical and biological engineering science, Vol. E. Academic Press, London.
- Brock, T.D. (1970) — Biology of microorganisms. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New York.
- Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E. (1974) — Bergy's manual of determinative bacteriology, 8th ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- Bungary, H.R. (1968) — Microbial interactions in continuous culture. *Adv. Appl. Microbiol.*, 10, 269-290.
- Burnett, J.H. (1968), — Fundamentals of mycology. St. Martin's Press, New York.
- Calam, C.T. (1964) — The selection, improvement and preservation of microorganisms. *Prog. Ind. Microbiol.*, 5, 1—54.
- Carr, J.G., Cutting, C.V., and Whiting, G.C. (1975) — Lactic acid bacteria in beverages and food. Academic Press, New York.
- Casida, L.E., Jr. (1968) — Industrial microbiology. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Chapman, V.J., and Chapman, D.J. (1973) — The algae, 2nd ed. Macmillan Press Ltd., New York.

- Commonwealth Mycological Institute (1968) — Catalogue of the culture collection of the commonwealth mycological institute, 5th ed. 162 pp. Kew Surrey, England.
- Demain, A.L. (1966) — Industrial fermentation and their relation to regulatory mechanisms. *Adv. Appl. Microbiol.* 8, 1—27.
- Edward, V.H. (1969) — The recovery & purification of biochemicals. *Adv. Appl. Microbiol.* 11, 159-210.
- Encyclopaedia Britanica (1979) — The new encyclopaedia britanica, Vol. 1 & 12. Encyclopaedia Britanica Inc., Chicago.
- Fisher, L. (1969) — An introduction to gel chromatography. North Holland Pub. Co., Amsterdam, Netherlands.
- Food and Agriculture Organization (1974 a) — FAO. Bibliography list, No. 27 — 283 — 74, 24 (4) 12.
- Forage, A.J. and Righelato, R.C. (1979) — Biomass from carbohydrates. In "Microbial biomass", (A.H. Rose, ed.) Academic Press, New York.
- Fraizer, W.C., and Westhoff, D.C. (1978) — Food microbiology, 3rd ed. McGraw-Hill Book Co., New York.
- Gainey, P.T., and Lord, T.H. (1952) — Microbiology of water and sewage. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J.
- Gerhardt, P., and Bartlett, M.C. (1959) — Continuous industrial fermentations. *Adv. Appl. Microbiol.*, 1, 215—260.
- Grob, R.L. (1977) — Modern practice of gas chromatography. John Wiley, New York.
- Guirard, B.M., and Snell, E.E. (1962) — Nutritional requirements of microorganisms. In "The bacteria". (I.C. Gunsalus and R.Y. Stanier, eds.) Vol. 4, p. 33—93. Academic Press, New York.
- Harrison, D.E.F. (1978) — Mixed cultures in industrial fermentation processes. *Adv. Appl. Microbiol.*, 24, 129-164. Van Nostrand Reinhold Co., New York.
- Heckey, R.J. (1961) — Preservation of bacteria by liphilization. *Adv. Appl. Microbiol.*, 3, 1—76.
- Heckey, R.J. (1978) — Preservation of microorganisms. *Adv. Appl. Microbiol.*, 24, 1—53.
- Heden, G.G. and Starr, M.P. (1964) — Global impacts of applied microbiology: an appraisal. *Adv. Appl. Microbiol.*, 6, 2—28.

- Heftemänn, E. (1975)** — **Chromatography: a laboratory hand-book for chromatographic and electrophoretic methods**, 3rd ed. Van Nostrand Reinhold Co., New York.
- Hesseltine, C.W. and Haynes, W.C. (1973)** — Sources and management of microorganisms for the development of a fermentation industry. *Prog. Ind. Microbiol.*, 12, 3—46.
- Hockenhull, D.J.D. (1975)** — The fermentor pilot plant and its aims. *Adv. Appl. Microbiol.*, 19, 187—208.
- Hockenhull, D.J.D. (1977)** — Information control in fermentation development. *Adv. Appl. Microbiol.*, 21, 125—159.
- Horvath, C. (1980)** — High performance liquid chromatography, Vol. 1 & 2. Academic Press, New York.
- Hutner, S.H. (1972)** — Inorganic nutrition. *Ann. Rev. Microbiol.*, 26, 197—232.
- Jackson, D.F. (1968)** — **Algae, man and the environment**. Syracuse Univ. Press, Syracuse, New York.
- Jay, J.M. (1970)** — **Modern food microbiology**. Van Nostrand Reinhold Co., New York.
- Jenning, W. (1980)** — **Gas chromatography with glass capillary columns**. Academic Press, New York.
- Joslyn, M.A. (1970)** — **Method in food analysis: physical, chemical and instrumental methods of analysis**, 2nd ed. Academic Press, New York.
- Kelly, D.P. (1971)** — **Autotrophy: Concepts of lithotrophic bacteria and their organic metabolism**. *Ann. Rev. Microbiol.*, 25, 177—210.
- Lamana, C., and Mallette, M.F. (1965)** — **Basic bacteriology**, 3rd ed. Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- Lederbeerg, J., and Lederberg, E.M. (1952)** — Replica planting and indirect selection of bacterial mutants. *J. Bacteriol.*, 63, 399—406.
- Lodder, J. (1970)** — General classification of the yeasts. In "The yeasts" (J. Lodder, ed.) North-Holland Pub. Co., Amsterdam.
- Margalith, P. (1964)** — Secondary factors in fermentation processes. *Adv. Appl. Microbiol.*, 6, 69—90.
- Maxon, W.D. (1960)** — Continuous fermentation. *Adv. Appl. Microbiol.*, 2, 335—349.

- McDonald, K.D. (1976) — Second international symposium on the genetics of industrial microorganisms. Academic Press, New York.
- McKinney, R.E. (1962) — Microbiology of sanitary engineers. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York.
- Meyrath, J., and Bayer, K. (1979) — Biomass from whey. In "Microbiol biomass", (A.H. Rose, ed.), Academic Press, New York.
- Miller, B.M., and Litsky, W. (1976) — Industrial microbiology, McGraw-Hill Book, Co., New York.
- Moat, A.G. (1979) — Microbial physiology. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Muggleton, P.W. (1962) — The preservation of cultures. *Prog. Ind. Microbiol.*, 4, 190—214.
- Payne, J.W. (1980) — Microorganisms and nitrogen sources. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Pelczar, M.L., and Reid, R.D. (1972) — Microbiology. McGraw-Hill Book, Co., New York.
- Peppler, H.J., and Perlman, D. (1979) — Microbial technology, 2nd ed. Vol. 1. Microbial processes. Academic Press, New York.
- Peppler, H.J., and Perlman, D. (1979) — Microbial technology, 2nd ed. Vol., 2. Fermentation technology.
- Pomerance, Y., and Meloan, C.E. (1971) — Food analysis: theory and practice. AVI Pub. Co., Westport, Conn.
- Prescott, G.W. (1968) — The algae: a review. Houghton, Mifflin, Boston.
- Prescott, S.C., and Dunn, C.G. (1959) — Industrial microbiology. 3rd ed. McGraw-Hill Book Co., New York.
- Rainbow, C., and Rose, A.H. (1963) — Biochemistry of industrial microorganisms. Academic Press, New York.
- Rendina, G. (1971) — Experimental methods in modern biochemistry. W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- Reusser, F. (1963) — Stability and degeneration of microbial cultures on repeated transfer. *Adv. Appl. Microbiol.*, 5, 189—216.
- Rhodes, A., and Fletcher, D.L. (1966) — Principles of industrial microbiology, 1st ed. Pergamon Press, Oxford.

- Rose, A.H. (1961) — Industrial microbiology. Butterworths, Washington.
- Rose, A.H., and Harrison, J.S. (1969) — The yeasts, Vol. 1. Biology of yeasts. Academic Press, New York.
- Rose, A.H., and Harrison, J.S. (1970) — The yeasts, Vol. 3. Yeast technology. Academic Press, New York.
- Rose, A.H., and Harrison, J.S. (1971) — The yeasts, Vol. 2. Physiology and biochemistry of yeasts. Academic Press, New York.
- Rose, A.H. (1976) — Chemical microbiology: an introduction to microbial physiology, 3rd ed. Butterworths, London.
- Round, P.E. (1965) — The biology of algae. Edward Arnold, London.
- Shelland, E.J. (1968) — Quantitative paper and thin-layer chromatography. Academic Press, New York.
- Smith, G. (1969) — An introduction to industrial microbiology, 6th ed. St. Martin's Press, New York.
- Smith, J.E. and Berry, D.R. (1975) — Industrial mycology, Vol. 1. The filamentous fungi. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Smith, J.E., and Berry, D.R. (1976) — The filamentous fungi, Vol. 2. Edward Arnold, London.
- Solomons, G.L. (1969) — Materials and method in fermentation. Academic Press, New York.
- Stahl, E. (1969) — Thin-layer chromatography, Springer, Berlin. New York.
- Stanier, R.Y., Adelberg, E.A., and Ingraham, J. (1976) — The microbial world. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J.
- Steel, R., and Miller, T.L. (1970) — Fermenter design. Adv. Appl. Microbiol., 12, 153—188.
- Stewart, G.G. (1974) — Some thoughts on the microbiological aspects of brewing and other industries utilizing yeast. Adv. Appl. Microbiol., 17, 233—264.
- Thoma, R.W. (1977) — Industrial microbiology. Dowden, Hutchinson & Ross, Inc., Stroudsburg, Pennsylvania.
- Underkofler, L.A., and Hickey, R.J. (1954) — Industrial fermentation. Vol. 1 & 2. Chemical Publishing Co., Inc., New York.
- Walter, W.G., and Mc Bee, R.H. (1962) — General microbiology, 2nd ed. Van Nostrand Co., Inc., New York.

- Walter, H.F. (1976) — Ion-exchange chromatography. Dowden Hutchinson & Ross, Inc., Stroudsburg, Pennsylvania.
- Weiser, H.H., Mountney, G.J., and Gold, W.A. (1971) — Practical food microbiology and technology. 2nd ed. AVI Pub. Co., Inc., Westport, Conn.
- Wilkinson, J.F., and Rose, A.H. (1963) — Fermentation processes. p. 395—397. In "Biochemistry of industrial microorganisms" (C. Rainbow and A.H. Rose, eds.). Academic Press, New York.
- Zweig, G., and Whitaker, J.R. (1971) — Paper chromatography and electrophoresis, Vol. 2. Academic Press, New York.

PART 3

الباب الثالث

العمليات الأيضية للأحياء المجهرية

MICROBIAL METABOLISM

الفصل الاول

الأسس العامة لمسارات نقل الطاقة والمسارات الأيضية

General Principles of Energy Transfer Metabolic Pathways

1. مقدمة
2. تصنيف الخلايا تبعاً لاحتياجاتها من مصادر الكربون والطاقة
3. العلاقة بين دورة الكربون وسريان الطاقة
4. دورة النتروجين والحاجة إلى المركبات النتروجينية
5. مرونة واقتصاد الكائنات الحية في احتياجاتها الغذائية
6. الأيض الهدمي والأيض البنائي
7. العلاقة بين مسارات الأيض الهدمي والبنائي والأيض المزدوج
8. دورة الطاقة في الخلايا
9. السيطرة الخلوية على المسارات الأيضية

1 . مقدمة

يمكن وضع تعريف عام للايض metabolism بأنه نشاط متشعب الواجه ومحدد الاهداف تشترك فيه عدة مجاميع من أنظمة متعددة الانزيمات multienzyme systems لتحقيق تبادل المادة والطاقة بين الخلية والبيئة المحيطة بها . وهناك أربع وظائف متخصصة للايض هي :-

1. استخلاص الطاقة الكيميائية من البيئة المحيطة سواء من المواد الغذائية العضوية أو من ضوء الشمس .
 2. تحويل المواد الغذائية الى وحدات بناء أساسية أو مركبات أولية مولدة Precursors للمركبات البيولوجية ذات الأيزان الجزيئية العالية التي تدخل في تركيب الخلايا .
 3. ترتيب أو تحويل وحدات البناء الأساسية الى بروتينات وحمض نووي وليبيدات ومكونات أخرى ضرورية لحياة الخلية .
 4. بناء وتكسير المركبات البيولوجية المطلوبة للقيام بوظائف خاصة في الخلايا .
- وبصورة عامة تمتاز المسارات الايضية في الكائنات الحية المختلفة بتشابه تفاعلاتها وخاصة ما يعرف بالمسارات الايضية المركزية أو الأساسية بالرغم من وجود ثبات من التفاعلات الانزيمية المختلفة في هذه المسارات .
- ويتناول هذا الفصل مناقشة عامة واستعراضا لمصادر الطاقة والمادة الضروريين الحياة ، اذ أن التصنيف على أساس الصورة الكيميائية للكربون الذي تحتاجه الخلايا إضافة الى مسارات نقل الطاقة .

2. تصنيف الخلايا تبعا لاحتياجاتها من مصادر الكربون والطاقة

هناك أسس أو اعتبارات عديدة يمكن بموجبها تصنيف وتقسيم الخلايا الحية ، اذ أن التصنيف على أساس الصورة الكيميائية للكربون الذي تحتاجه الخلايا من البيئة يقسمها الى مجموعتين رئيسيتين هما :

1. خلايا ذاتية التغذية Autotrophic Cells — وهي الخلايا التي بمقدورها استغلال ثاني أوكسيد الكربون كمصدر وحيد للكربون في بناء المركبات الحيوية المحتوية على الكربون .
2. خلايا غير ذاتية (متباينة) التغذية Heterotrophic Cells — — وهي

الخلايا التي ليس بمقدورها استغلال ثاني أو اوكسيد الكربون ويتوجب عليها الحصول على الكربون من البيئة المحيطة بها بصورة ممقّدة نسبيا ومختزلة كالجلكوز .

وبالامكان اعتبار الخلايا ذاتية التغذية بأنها تتميز بالاكتفاء الذاتي مقارنة بالخلايا غير ذاتية التغذية التي تحتاج الى مركبات ناتجة عن خلايا أخرى وذلك بحكم احتياجها الى صيغة متطورة من الكربون . وتضم الخلايا ذاتية التغذية الخلايا القادرة على القيام بعملية التخليق الضوئي وبعض انواع البكتريا ، في حين تشمل الخلايا غير ذاتية التغذية معظم الاحياء المجهرية وجميع خلايا الحيوانات لراقية .

كذلك يمكن تصنيف الخلايا تبعا لمصادر الطاقة التي تستغلها وذلك كما

يلجى :-

1. الخلايا الفوتوتروفية Phototrophs — وهي الخلايا التي تستعمل الضوء كمصدر للطاقة .

2. الخلايا الكيموتروفية Chemotrophs — وتستعمل هذه الخلايا الاكسدة والاختزال للحصول على الطاقة الا أنها تختلف فيما بينها في طبيعة مانحات الالكترونات Electron Donors التي تتم اكسدتها للحصول على الطاقة ، ويمكن تمييز نوعين رئيسين من الخلايا ضمن هذه المجموعة :-

1.2. Chemoorganotrophs — وتتميز باحتياجها الى جزيئات عضوية ممقّدة

تكون بمثابة مانحات الالكترونات مثل الجلكوز . وتنقسم هذه الى قسمين :-

(أ) الكائنات الحية الهوائية Aerobic — وهذه الكائنات تستعمل الاوكسجين الجزيئي كمستقبل نهائي Ultimate acceptor للالكترونات الاتية من مانحات الالكترونات العضوية التي تستغلها هذه الكائنات كمصدر للكربون .

(ب) الكائنات الحية اللاهوائية Anaerobic — وهذه الكائنات تستعمل جزيئة أخرى كمستقبل للالكترونات موزا عن الاوكسجين .

2.2. Chemolithotrophs — وتتميز بكون مانحات الالكترونات التي تحتاجها

مبارة من جزيئات لا عضوية بسيطة مثل الهيدروجين وكبريتيد الهيدروجين والامونيا والكبريت . ويبين الجدول (1.1) خلاصة لتصنيف الكائنات الحية تبعا للاس

السابق ذكرهما مع بعض الأمثلة المناسبة . ويلاحظ من الجدول أن الغالبية العظمى من الكائنات الحية تقع ضمن النوعين الأول والرابع ، وأن الاحياء المجهرية المستخدمة في مجال التخمرات الصناعية تصنف ضمن النوع الرابع .

علاوة على ما ذكر ، فإن هناك كائنات حية يمكنها العيش بصورة هوائية أو لا هوائية أي اختيارية Facultative ، ، اذ تستطيع استعمال الاوكسجين أو المركبات العضوية كمستقبل للإلكترونات . وتكون معظم الخلايا غير ذاتية التغذية (وخاصة خلايا الكائنات الراقية) اختيارية ولو أنها تحبذ استعمال الاوكسجين عند توفره . كذلك ينبغي الانتباه الى أن المرونة الأيضية العالية التي تتمتع بها بعض أنواع الاحياء التي تتجلى في احتوائها على أكثر من صنف أو نوع من الخلايا . فبالخلايا الغضراء المحتوية على الكلوروفيل والموجودة في أوراق النباتات الراقية تكون ذاتية التغذية قادرة على القيام بالتخليق الضوئي ، في حين تكون خلايا الجذور غير ذاتية التغذية . وكذلك فإن معظم خلايا الاوراق الغضراء تقوم بوظيفة التخليق الضوئي في ضوء الشمس أي ذاتية التغذية الا انها تتصرف كخلايا غير ذاتية التغذية في الظلام .

3. العلاقة بين دورة الكربون وسريان الطاقة

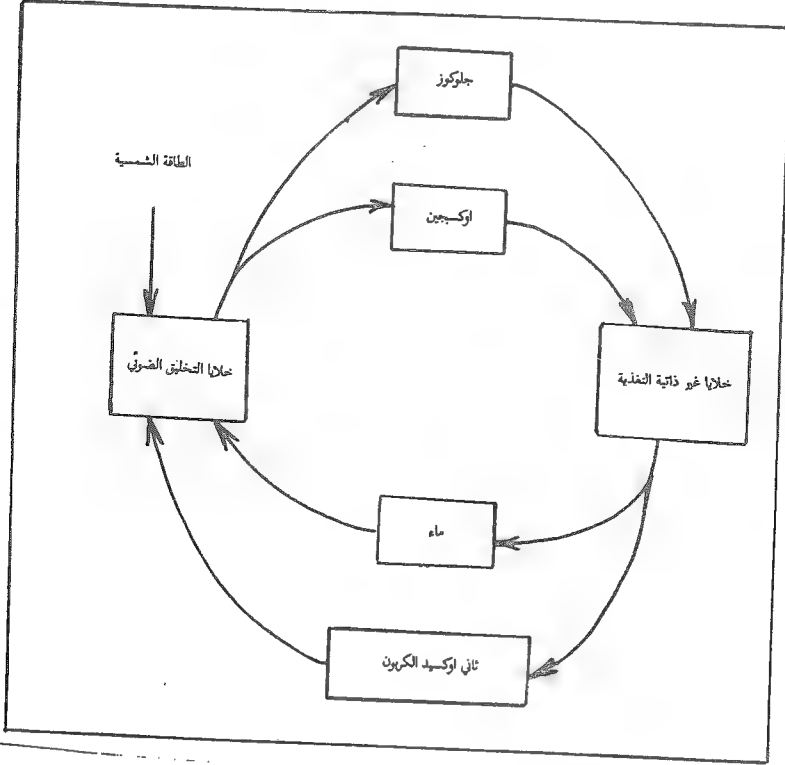
تمتاز الكائنات الحية في الطبيعة باعتمادها بعضها على البعض غذائيا . فبعض الاحياء غير ذاتية التغذية تعتمد في عيشتها على احياء لها القدرة على القيام بعملية التخليق الضوئي ، اذ تنتج الاخيرة مركبات عضوية كالجلكوز من ثاني أوكسيد الكربون الجوي وتلفظ الاوكسجين . في حين تقوم الاحياء غير ذاتية التغذية باستغلال الجلكوز والاكسجين الناتج وتميد ثاني اوكسيد الكربون بلفظه الى الجو ثانية . ويوضح الشكل (1.1) هذه العلاقة .

ويترافق سريان الطاقة وتحولها مع دورة الكربون ، اذ يجري تحويل الطاقة الشمسية الى طاقة كيميائية مخزونة في جزيئات الجلكوز اضافة الى نواتج الاختزال الضوئي الاخرى وذلك خلال التخليق الضوئي . اذ تستفيد الكائنات الحية غير ذاتية التغذية من هذه الطاقة الكيميائية للقيام بكافة التفاعلات والنشاطات المطلوبة للطاقة . ويتضح من هذا ان الطاقة الشمسية هي المصدر

الجدول (1.3)
تصنيف الكائنات الحية تبعاً لمصدر الكربون ومصدر الطاقة

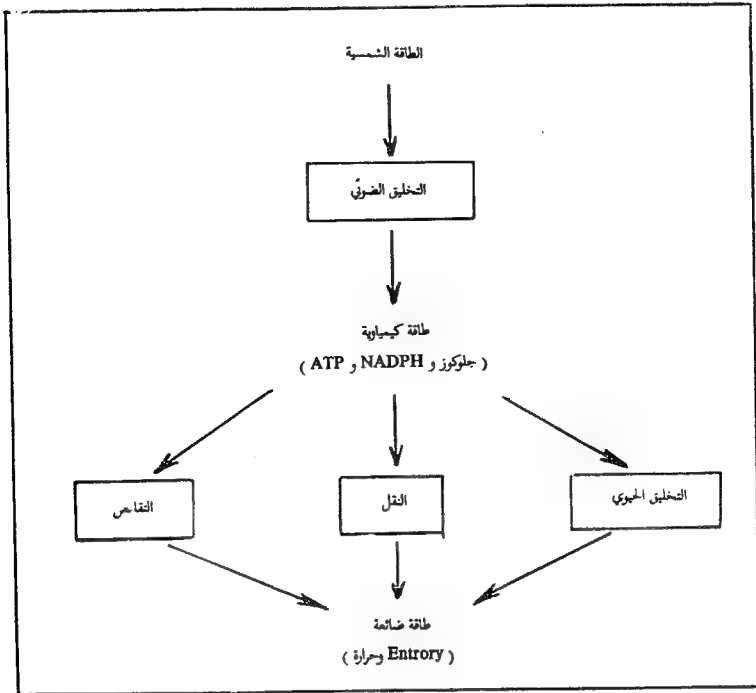
نوع الكائن الحي	مصدر الكربون	مصدر الطاقة	ملاحظات الالكترونات	الأمثلة
1- Photolithotrophs	CO_2	الضوء	الركبات اللاعضوية المتحللة في النباتات الرقيقة، بكتريا المطحالب الخضراء المزرقة، بكتريا التخليق الضوئي.	الركبات اللاعضوية المتحللة في النباتات الرقيقة، بكتريا المطحالب الخضراء المزرقة، بكتريا التخليق الضوئي.
2- Photoorganotrophs	الركبات العضوية إضافة إلى CO_2	الضوء	الركبات العضوية	بكتريا الأرجوانية غير الكبريتية Nonsulfur Purple Bacteria
3- Chemolithotrophs	CO_2	تفاعلات الأكسدة والاختزال	الركبات اللاعضوية (S, H_2, NH_3) والكبريت، بكتريا الهيدروجين (Fe^{+2}, H_2S)	بكتريا الحديد، بكتريا الكبريت، بكتريا الهيدروجين
4- Chemooorganotrophs	الركبات العضوية	تفاعلات الأكسدة والاختزال	الركبات العضوية (الجلوكوز)	مظم خلايا الأحياء المجهرية، خلايا النباتات غير القادرة على القيام بالتخليق الضوئي، جميع الحيوانات الرقيقة.

مرفيع السطح (1.1) هذه العلاقة .



الشكل (1.1) الاعتماد الغذائي للكائنات الحية في الطبيعة

الاساس للطاقة لجميع أنواع الخلايا سواء كانت ذاتية التغذية أم غير ذاتية التغذية كما هو موضح في الشكل (2.1) • ان الاعتماد الغذائي للكائنات الحية المختلفة بعضها على البعض متمثلا بدورتي الكربون والطاقة يعرف بالـ Syntrophy وهو بدوره يعد صفة مميزة لجميع الانظمة البيئية •



الشكل (2.1) سريان وتحويل الطاقة بين الانظمة البيولوجية

الجدول (2.1)

الاحتياجات الأساسية لثو نوعين من البكتريا :

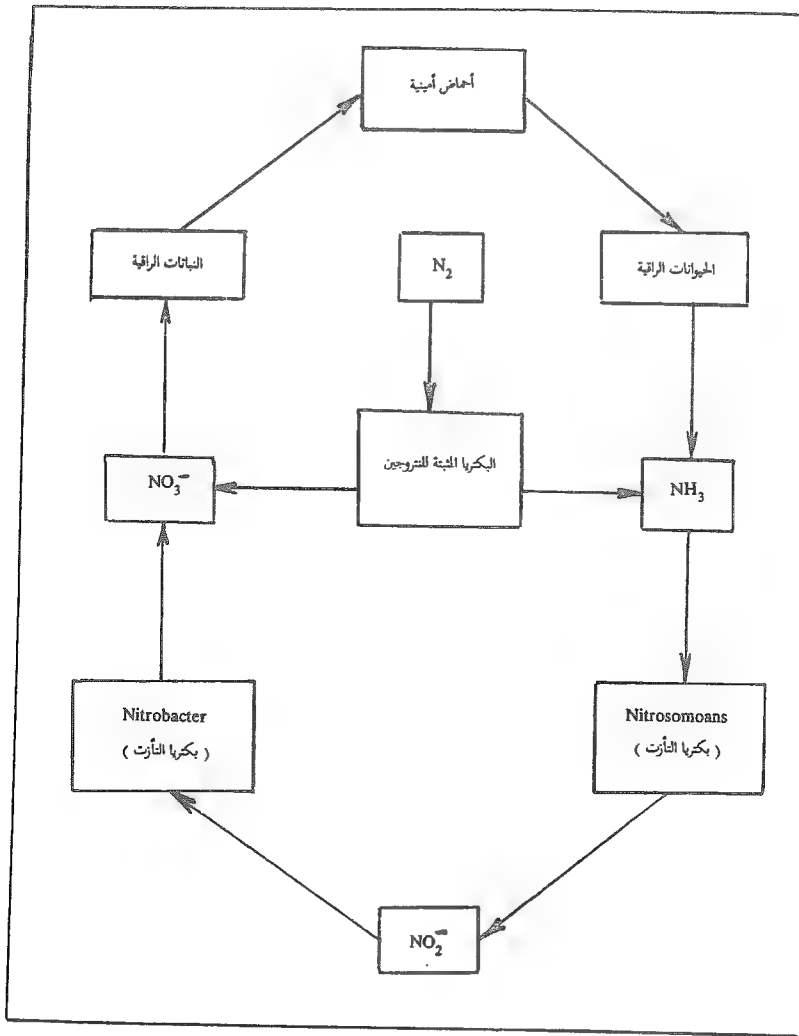
Leuconostoc mesenteroides	Escherichia coli	المصدر الغذائي
جلوكوز NH_4^+ الإحماض الأمينية :	جلوكوز NH_4^+	مصدر الكربون والطاقة مصدر النتروجين
<p>الانين ، ارجنين ، اسبارتيك ، اسباراجين ، سبستين ، جلوتاميك ، جلايسين ، هستدين ، ايسوليوسين ، ليوسين ، ميثيونين ، فيل الانين ، بروتين ، سيرين ، ثريونين ، تريوفان ، تيروسين ، فالين .</p> <p>القواعد :-</p> <p>ادنين ، جواتين ، يوراسيل ، راتين .</p> <p>الفيتامينات :</p> <p>ثيامين ، بيريدوكسيد ، حامض البانتوثينيك ، رايوفلافين ، حامض النيكوتينيك ، حامض أس أمينو بنزويك ، بيوتين ، حامض الفوليك</p> <p>العناصر المعدنية</p> <p>SO_4^{2-} , PO_4^{2-} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ Mg^{2+} , K^+ , Na^+ Mn^{2+} , Fe^{2+} , SO_4^{2-} , HPO_4^{2-} ,</p>		

4. دورة النتروجين والعاجة الى المركبات النتروجينية

تحتاج الكائنات الحية الى النتروجين لتخليق البروتينات والاحماض النووية ، لذا فهو من العناصر التي تدور خلال الكائنات الحية في الطبيعة بواسطة الـ **Syntrophy** . ونظرا لكون النتروجين الجزيئي خاملا كيميائيا فان معظم الكائنات الحية لا تستطيع الاستفادة منه بالرغم من نسبته العالية في الغلاف الجوي ، الامر الذي يضطرها الى الحصول على النتروجين من البيئة بصورة متحدة كالنترات أو الامونيا أو مركبات أخرى أكثر تعقيدا مثل الاحماض الامينية . ومن ملاحظة دورة النتروجين المبينة في الشكل (3.1) يبدو واضحا ان الميعة المتعددة للنتروجين في حالة دوران مستمر ، مما يجعل وجود النتروجين في المياه السطحية والتربة ضئيلا . حيث تحمّل النباتات على معظم النتروجين الذي تحتاجه بصورة نترات من التربة ، وتقوم باختزالها وتحويلها الى أمونيا وأحماض أمينية ومركبات مختلطة أخرى تستغلها الحيوانات وتعيدها الى التربة بصورتها المختلطة . ويتم إعادة أكسدة الامونيا وتحويلها الى نترات ونترت بفعل احياء التربة المجهرية حيث تستفيد منها النباتات مرة أخرى وهكذا . في حين يتم تجهيز النتروجين المتحد من اختزال النتروجين الجوي بواسطة البكتيريا المثبتة للنتروجين .

ويعتمد العديد من الكائنات الحية غذائيا على صيغ كيميائية متخصصة جدا من النتروجين المتحد الاتي من البيئة . ويوضح الجدول (2.1) مدى التباين في درجة الاعتماد هذه . ففي حين يمكن لبكتيريا *E. Coli* استغلال مركب بسيط كالامونيا كمصدر وحيد للنتروجين لتخليق جميع الاحماض الامينية والمركبات النتروجينية الأخرى ، فان بكتيريا *Leuconostoc meaeenteroides*

لا يمكنها العيش على الامونيا وحدها بل تحتاج الى 32 عنصرا غذائيا نتروجينيا مختلفا بضمنها معظم الاحماض الامينية . والحاجة التي تبديها بعض الكائنات الحية الى الفيتامينات تنبع من عدم قدرتها على تخليق هذه المركبات العضوية الضرورية التي تدخل في تركيب المرافقات الانزيمية *Coenzymes* . وعادة فان مثل هذه الكائنات الحية تحتاج الى كميات ضئيلة من الفيتامينات مقارنة بالعناصر الغذائية الأخرى (كالجلكوز على سبيل المثال) وذلك لكون المرافقات



الشكل (3.1) دورة النيتروجين في الكائنات الحية

الانزيمية موجودة في الخلايا بتركيز واطئة جدا . وعلى سبيل المثال تحتاج بعض انواع البكتريا الى البيوتين بحدود 10⁻¹² ملغم لكل مل من وسط النمو .

5. مرونة واقتصاد الكائنات الحية في احتياجاتها الغذائية

تمتاز الكائنات الحية بامتلاكها مرونة أيضية كبيرة تتمكن بواسطتها من التأقلم مع الظروف الغذائية من ناحية النوع والكم المتاحين في البيئة وذلك ضمن حدود التصنيف الايضي الاساس للكائن الحي . اذ بالرغم من كون بكتريا *E. Coli* تصنف ضمن مجموعة الاحياء Chemoorganotrophs الا انها تبدي تباينا يفضيا كبيرا في احتياجاتها وتأقلمها ، فهي تستطيع استعمال الجلوكوز اضافة الى سكريات اخرى ، والجليسرول ، والاحماض الامينية ، والكحول الايثيلي ، او الخلات كمصدر وحيد للكربون . ان هذه المرونة ناتجة عن امكانية تحويل جميع هذه المركبات الوسطية في خلية *E. Coli* الى مركبات قابلة للدخول في المسارات الايضية المركزية . الا ان هذه البكتريا تتمكن من استغلال مركبات اخرى ، فضلا عن الامونيا ، كمصادر نتروجينية مثل الاحماض الامينية وقواعد البيورين وقواعد البيريميدين والكولين وغيرها من المركبات النتروجينية . والملاحظ ان خلايا *E. Coli* تنمو بسرعة ملحوظة عند استبدال الامونيا بخليط متكامل من الاحماض الامينية وقواعد البيورين والبيريميدين الضرورية لتخليق البروتينات والاحماض النووية . وترجع الزيادة في سرعة النمو الى ان وجود هذه المركبات في وسط النمو يوفر على الخلية مهمة تخليقها من الامونيا عند وجود الاخيرة كمصدر وحيد للنتروجين .

ان توفر الاحماض الامينية (في وسط النمو) يجعل الخلايا تتوقف عن استعمال الامونيا ، اذ تعد هذه الاحماض بمثابة اشارة ايقاف للجينات المسؤولة عن تخليق الانزيمات المطلوبة لتحفيز تفاعلات تخليق الاحماض الامينية من الامونيا ، أي توفير الشغل الايضي والطاقة المصروفة في تخليق تلك الانزيمات التي أصبحت عديمة الفائدة . ويصطلح على تسمية عملية ايقاف الجينات هذه بالكبح أو القمع Repression . اما عند توفر الاحماض الامينية في بيئة النمو بتركيز دون الحد الأدنى فان الكبح الواقع على هذه الجينات يزول ويتم

وسوف ترد مناقشه اكثر تفصيلا عن الاساليب التي تتبعها الخلية في استعمال الطاقة والمادة في مكان آخر من هذا الفصل .

6. الايض الهلامي والايض البنائي

ان الايض الهلامي **Catabolism** والايض البنائي **Anabolism** يشكلان الجزئين اللذين يتألف منهما الايض **Metabolism** . فالايض الهلامي هو عملية تكسير لجزيئات المكونات الغذائية الكبيرة (كربوهيدرات وليبيدات وبروتينات) بفعل الانزيمات وبتفاعلات تكون معظمها تأكسدية **oxidative** الى مجموعة من الجزيئات الصغيرة أبسط تركيبا مثل حامض اللاكتيك أو حامض الخليك أو ثاني أكسيد الكربون أو الامونيا أو اليوريا . وتحصل الخلية على المكونات الغذائية المذكورة أما من البيئة المحيطة أو من أجزائها التي تقوم بخزن هذه الجزيئات . ويصاحب الايض الهلامي تحرر مقدار من الطاقة الحرة التي كانت مخزونة في التركيب المعقد للمكونات الغذائية الكبيرة حيث أنها تتحرر بفعل تكسير وأكسدة هذه الجزيئات ومن ثم تخزن بصورة روابط فوسفاتية خفية بالطاقة في مركبات معينة مثل ثلاثي فوسفات الادينوسين (**ATP**) .

أما الايض البنائي فيشمل مجموعة تفاعلات تخليق انزيمية للجزيئات الكبيرة التي تدخل في تكوين الخلية (كالكسكيات المتعددة والبروتينات والليبيدات والاحماض النووية) وذلك من جزيئات المواد الأولية المولدة **Precursors** . وتتطلب تفاعلات الايض البنائي مقدارا من الطاقة الحرة وذلك لانخفاض الانتروبي **Entropy** الذي يرافقها والناجم عن زيادة تعقيد تركيب وحجم الجزيئات الناتجة عن تفاعلات التخليق . ويكون امداد الطاقة الحرة المطلوبة لهذه التفاعلات بصورة **ATP** , حيث أن تفاعلات الايض البنائي والهلامي تجري بصورة مترافقة في الخلية . وبصورة أعم يتألف الايض بجزيئه الهلامي والبنائي من نوعين من العمليات يسيران بصورة متلازمة (في آن واحد) ويعتمد احدهما على الآخر . يشمل النوع الاول سلاسل التفاعلات الانزيمية التي يتم فيها تخليق أو تكسير جزيئات أحد المركبات الحيوية . وتسمى المركبات الوسيطة في هذا النوع من التفاعلات بالمركبات الايضية **Metabolites** وهذا الجزء من التفاعلات الايضية يسمى

بالايض الوسطي Intermediary Metabolism . أما النوع الثاني فهو تغير الطاقة المصاحب لتفاعلات الايض الوسطي حيث يعتمد مقدار التغير على نوع التفاعل . ويتم حفظ جزء من الطاقة المتحررة من بعض التفاعلات عند خطوات ومراحل من الايض الهدمي بشكل روابط فوسفاتية غنية بالطاقة تستغل عند مراحل معينة من الايض البنائي عندما تدعو الحاجة الى طاقة لتسيير التفاعلات ، وهذا ما يعرف بازدواج الطاقة Energy Coupling ، لذا يتوجب مراعاة العاملين الاتيين عند دراسة المسارات الايضية :

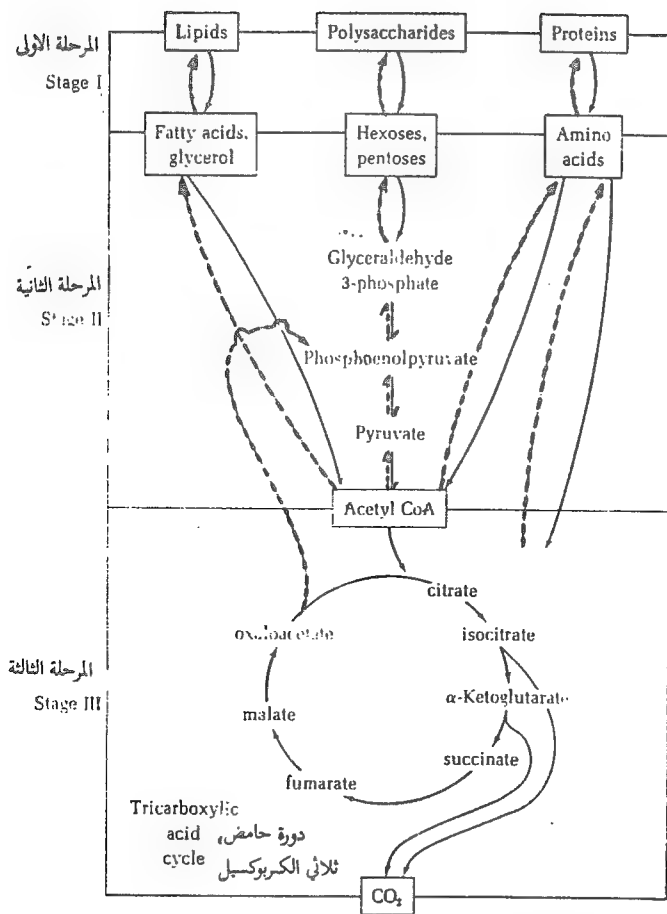
1. معرفة التفاعلات التي يحدث فيها تغير الروابط التساهمية أو التركيب التساهمي للمركب الاول لتكوين الناتج .
2. تغييرات وتبادلات الطاقة الكيميائية المصاحبة لهذا التحويل .

7. العلاقة بين مسارات الايض الهدمي والايض البنائي والايض المزدوج

كما مر سابقا ، فان تكسير المكونات الغذائية ذات الازنان الجزيئية الكبيرة (كربوهيدرات وليبيدات وبروتينات) يتم عبر سلسلة من التفاعلات الانزيمية المتعاقبة . يتم الايض الهدمي لهذه المكونات الغذائية في المراحل الاساسية الثلاث التالية وكما هو موضح في الشكل (4.1) .

1. المرحلة الاولى :- ويجري فيها تكسير جزيئات المواد الغذائية الكبيرة الى وحدات تركيبية اساسية . فالسكريات المتعددة تتكسر لتعطي السكريات الخماسية أو السداسية الداخلة في تركيبها ، وينتج عن تكسير البروتينات الاحماض الامينية المشروون التي تدخل في تركيبها ، فيما ينتج عن تكسير الليبيدات الاحماض الدهنية والجليسرول وبعض الوحدات التركيبية الاخرى .

2. المرحلة الثانية :- ويتم في هذه المرحلة جمع نواتج عمليات وتفاعلات المرحلة الاولى وتحويلها الى مركبات أبسط . فالسكريات الخماسية والسداسية والجليسرول تتحول الى سكر ثلاثي مفسفر هو جليسرالدهيد-ث-فوسفات أولا ، ومن ثم الى صيغة ثنائية الكربون وهي مجموعة الاستيل في مركب استيل-كوا ، وهي الصيغة التي تكون عليها نواتج تكسير الاحماض الدهنية . أما الاحماض الامينية المشروون الناتجة عن تكسير البروتينات فانها تتحول الى عدة من المركبات



الشكل (4.1) • مراحل الايض الهدي والايض البنائي

(تمثل الاسهم غير المتقطعة مسارات الايض الهدي

والاسهم المتقطعة مسارات الايض البنائي)

هي استيل-كوا ، و α - كيتوجلوتارات ، وسكسينات ، وفهيوامارات ،
واوكوالواستيات .

3. المرحلة الثالثة :- وتعد هذه المرحلة بمثابة المرحلة النهائية المشتركة لجميع
نواتج المرحلتين الاولى والثانية ، حيث تتم أكسدتها لتعطي ثاني اوكسيد الكربون
والماء .

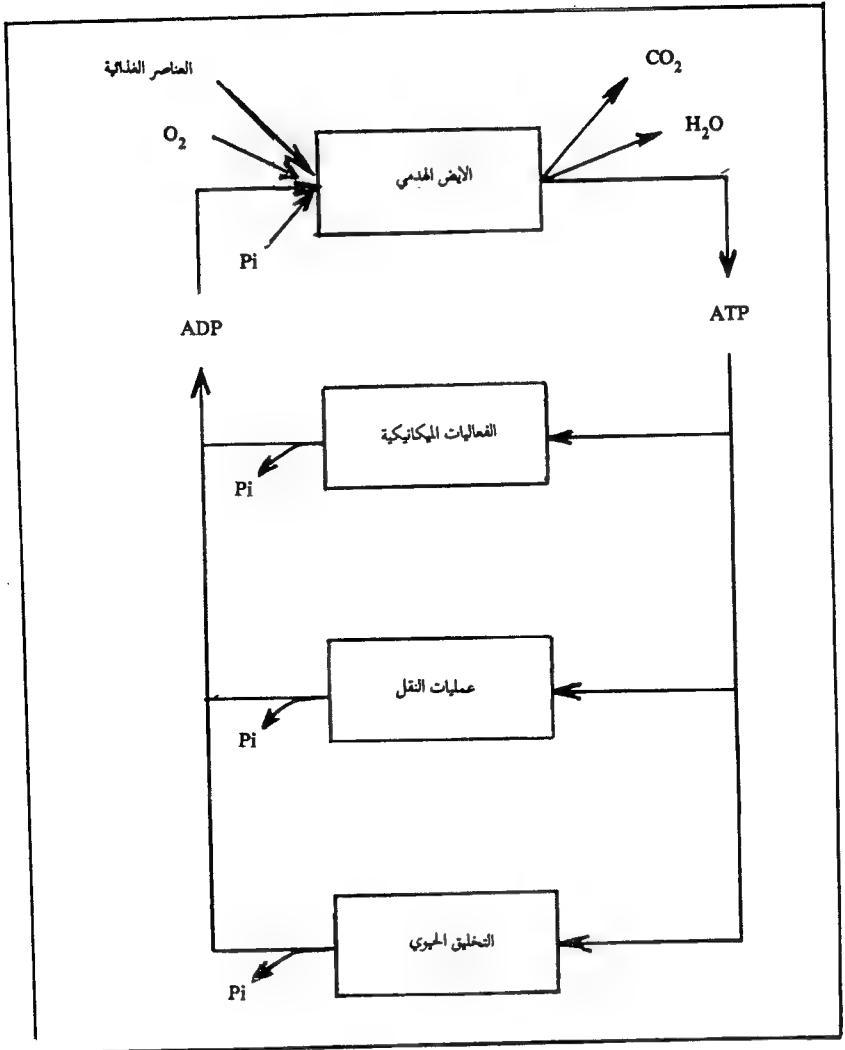
أما الايض البنائي ، فانه أيضا يتم في ثلاث مراحل مبتدئا بوحداث البناء
التركيبية الصغيرة الناتجة من المرحلة الثالثة من الايض الهدمي او المتواجدة فيها .
فالاحماض من نوع الفالسايتو α -Keto acids تمتد مصادر أولية لتخليق
الاحماض الامينية (من نوع الفا) وهي بدورها تشكل الوحدات التركيبية
الاساسية في تخليق البروتينات . أي أن المرحلة الثالثة من الايض الهدمي
تكون مشتركة بينه وبين الايض البنائي بالرغم من اختلاف طبيعة
تفاعلاتهما . ونظرا لكونها طبيقا مشتركا فانها تسمى أحيانا بمسار الايض
المزدوج Amphibolic Pathway . اذ يمكن ان تستغل مسارات هذه المرحلة
من قبل الخلية في الايض الهدمي وذلك بتكسير وأكسدة نواتج المرحلة الثانية ،
او تستغل في الايض البنائي وذلك بإمداد المرحلة الثانية منه بجزئيات المركبات
الأولية المولدة الضرورية لهذه المرحلة . أما ترابط تفاعلات الايض فانه ناجم
عن كون ناتج التفاعل لانزيم معين هو مادة تفاعل للانزيم الذي يليه في سلسلة
التفاعلات الانزيمية . وأخيرا فان معظم تفاعلات الايض الوسطي تتضمن تفاعلات
متعاقبة يتم خلالها انتقال مجاميع أمينو ، فوسفات ، مثيل ، فورميل ، أو كربوكسيل
أو ذرات هيدروجين بين المركبات الايضية المختلفة .

8. دورة الطاقة في الخلايا

من الحقائق الثابتة ، امتلاك الجزيئات العضوية المعقدة على مقدار كبير
نسبيا من الطاقة الكامنة نتيجة لارتفاع رتبة أو درجة النظام التركيبية
Structural Order والذي يعني بكلمة أخرى امتلاكها لدرجة واطئة من
المشوائية أي ذات انتروبي Entropy واطيء . وعلى سبيل المثال عند أكسدة
جزيئية جلوكوز بواسطة الاوكسجين الجزيئي لتعطي ستة جزيئات من CO_2 وستة

جزيئات ماء ، فان درجة عشوائية الذرات تزداد وذلك لانفصالها ببعضها عن بعض مما يكسبها القدرة على احتلال مواقع مختلفة بالنسبة لملاقتها ببعضها . اذن بسبب هذه الاكسدة فان جزيئة الجلوكوز تفقد مقدارا من الطاقة الحرة ، والتي هي طاقة قابلة للاستغلال في انجاز شغل تحت درجة حرارة وضغط ثابتين . وانطلاقا من هذا الاساس تقوم الخلية بحجز واستغلال الطاقة المتحررة من الجلوكوز لانجاز شغل ، اذ ان تفاعلات الاكسدة البيولوجية ما هي الا عمليات احتراق تجري على درجة حرارة واطنة . ولكون الكائنات الحية تعيش على درجة حرارة ثابتة نسبيا فانه من غير الممكن الاستفادة من الحرارة كمصدر للطاقة لا سيما أن انجاز شغل بواسطة الحرارة تحت ضغط ثابت يتطلب مريانا من جسم ساخن الى جسم بارد . ويتم حفظ الطاقة الحرة بصورة طاقة كيميائية ، حيث تحقق ، للخلية هذا الحفظ باستغلال تفاعلات الاكسدة والاختزال التي تحدث في مسارات الايض الهديمي وذلك بأسلوبين هما :-

1. حفظ الطاقة الحرة بصورة رابطة الفوسفات الفنية بالطاقة في ثلاثي فوسفات الادينوسين (ATP) حيث يطلق هذا المركب من ثنائي فوسفات الادينوسين (ADP) والفوسفات اللاعضوية ، وذلك بواسطة نقل مجموعة الفوسفات انزيميا في تفاعلات تسير بصورة مزدوجة coupled مع خطوات وتفاعلات اكسدة في مسارات الايض الهديمي . وبفضل امكانية ATP كمركب على الانتشار والوصول الى اجزاء الخلية التي تحتاج الى الطاقة ، فانه يعد أيضا صيغة أو أسلوبا لنقل الطاقة . وتتم الاستفادة من الطاقة الكيميائية لهذا المركب الفني بالطاقة من خلال انتقال مجموعة أو مجموعات الفوسفات الطرفية الى جزيئة أخرى بحيث تصبح الاخيرة ذات طاقة كافية لانجاز شغل . ويوضح الشكل (5.1) الغطوط العامة لتحويلات الطاقة وتغيراتها لكل من ATP و ADP .



الشكل (5.1) : دورة ATP و ADP في الخلية
 $(P_i \approx \text{الفوسفات اللاعضوية})$

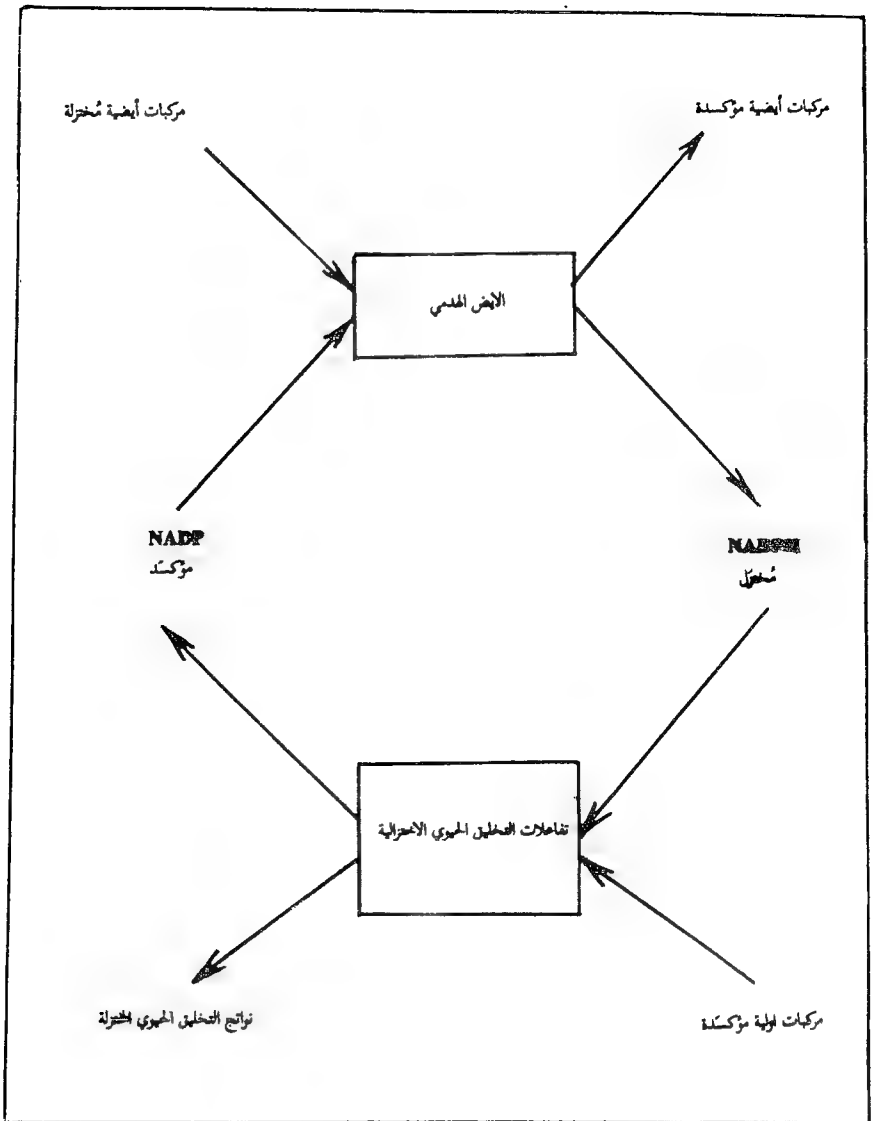
2. نقل الطاقة الناتجة من تفاعلات الأكسدة والاختزال في الايض الهدي الى تفاعلات الايض البنائي أو التخليق الحيوي التي تحتاج اليها بصورة أو هيئة الكترولونات ، كما في تخليق المركبات الحيوية ذات المحتوى العالي من الهيدروجين وخاصة الاحماض الدهنية والكوليستيرول . اذ يتم نقل الالكترولونات في الخلية بواسطة الانزيمات وذلك من تفاعلات الأكسدة المنتجة للالكترولونات في الايض الهدي الى المجاميع والمركبات التي تحتاج الى الالكترولونات . وتشارك في تفاعلات نقل الالكترولونات هذه المرافقات الانزيمية الناقلة للالكترولونات وفي مقدمتها NADP (نيكوتين أميد ادينين ثنائي نيوكليوتيد فوسفات) الذي يقوم بنقل الالكترولونات الغنية بالطاقة الاتية من تفاعلات الايض الهدي الى تفاعلات الايض البنائي التي تحتاج الى هذه الالكترولونات وكما هو موضح في الشكل (6.1) .

9. السيطرة الخلوية على المسارات الايضية

قبل استعراض الاساليب الرئيسة لسيطرة الخلية على المسارات الايضية ، ينبغي تأكيد أن المبدأ الذي تدير بموجبه جميع هذه المسارات ينطوي على درجة كبيرة من الاقتصاد في الطاقة . اذ أن سرعة الايض الهدي في الخلية تتحدد باحتياجاتها الانية من الطاقة (بصورة ATP) وليس بتركيز العناصر الغذائية في البيئة المحيطة بها . كذلك بالمقابل فان سرعة التخليق الحيوي (الايض البنائي) تتحدد بالحاجة الانية لمكونات الخلية ، اذ ان سرعة تخليق الاحماض الامينية مثلاً تكون متناسبة مع تزويد الخلية بالمقدار الأدنى والضروري من وحدات البناء الاساسية التي تدخل في تخليق البروتينات .

ويتم تنظيم المسارات الايضية في الخلية بعدة اساليب وعلى عدة مستويات يمكن تصنيفها ضمن الانواع العامة التالية :-

1. يشمل النوع الاول ، الذي يعد من أبسط الانواع ، بعض العوامل والمنغذات الاساسية المؤثرة في سرعة التفاعلات الانزيمية مثل الاس الهيدروجيني (pH) ، وثابت ميكيليس Michaelis Constant ، والميل Affinity اتجاه المرافقات الانزيمية وايونات الفلزات المنشطة والتي تعد صفات مميزة لكل



الشكل (6.1) : دور NADP في نقل القوة الاختزالية (الالكترونات)
في الخلية

انزيم موجود ضمن نظام متعدد الانزيمات . وهذا يعني ان السرعة الكلية لمثل هذا النظام في الخلية تعتمد على تركيز كل من الانزيمات الداخلة فيه ، والاس الهيدروجيني (pH) ، وتركيز المركبات الوسيطة ، وتركيز الايونات الفلزية ، والمرافقات الانزيمية في الخلية . اذ يعتمد الاس الهيدروجيني الخلوي على السرعة النسبة لجميع التفاعلات المحررة والمستهلكة للبروتونات ، وينجم عن ذلك تأثر المسار ، لا يضي بأية عملية أو خطوة تؤثر في الاس الهيدروجيني للخلية . كذلك الحال بالنسبة للمركبات الايضية الوسيطة اذ أن تركيز الحالة الثابتة **Steady State** لمركب ايضي وسطي معين يعتمد على سرعتي تكوينه واستغلاله اللتين يحددهما نشاط مجموعة الانزيمات الداخلة في النظام اضافة الى سرعة التفاعلات الانزيمية التي بإمكانها تكوين واستهلاك هذا المركب الايضي الوسطي . وأخيرا فان التراكمز المتيسرة من المرافقات الانزيمية الضرورية والايونات الفلزية الاسامية تحددها اعتبارات مماثلة لا سيما انها تكون موضع تنافس العديد من الانزيمات .

2. أما النوع الثاني من التنظيم والسيطرة فانه يتم بواسطة الانزيمات المنظمة **Regulatory Enzymes** التي تكون عادة عند بداية تفاعلات المسار الايضي المتعدد الانزيمات أو قريبا . وتكون أغلب الانزيمات المنظمة حساسة للتثبيط بواسطة الناتج النهائي من تفاعلات المسار ويدعى هذا النوع من التثبيط بتثبيط الناتج النهائي **End-Product Inhibition** أو تثبيط التغذية الراجعة **Feed-Back Inhibition** أو قد يسمى بالتثبيط الارتجاعي **Retroinhibition** . وعلى سبيل المثال يكون **ATP** بمثابة مثبط آللوستيري **Allosteric Inhibitor** في الانظمة الانزيمية التي يتم بواسطتها تخليقه من **ADP** وذلك بصورة مزدوجة مع تفاعلات الايض الهديمي . كذلك الحال في المسارات التي يجري فيها تخليق المركبات الحيوية فان المركب الناتج هو الذي يتصرف كمثبط آللوستيري . والملاحظ ان بعض الانزيمات الاللوستيرية تستجيب لتنشيط أو تثبيط اثنين أو أكثر من المنشطات أو المثبطات التي قد تكون ناتجة عن اثنين أو أكثر

من سلاسل التفاعلات الابضية المختلفة . لذا فان مثل هذه الانزيمات تسمى Multivalent Allosteric Enzymes وبامكانها تنظيم سرعة مسارين أو أكثر من المسارات الابضية .

3. تعد السيطرة الوراثية على سرعة تخليق الانزيم أحد الاساليب التي تتبعها الخلية في التنظيم الابضي ، وذلك لاعتماد سرعة المسار الابضي على تركيز الصورة الفعالة لكل من الانزيمات الداخلة فيه . وتعتمد التراكيز الفعالة لهذه الانزيمات على مقدار الاتزان بين تخليقها وتكسيرها . ومن الممكن تمييز نوعين أساسيين من الانزيمات :-

(أ) الانزيمات التكوينية Constitutive Enzymes -- وهذه الانزيمات تكون موجودة دائما في الخلية وبتركيزات ثابتة تقريبا .

(ب) الانزيمات المستعثة أو التطعيمية Induced or Adaptive Enzymes -- وهذه الانزيمات لا تكون موجودة دائما في الخلية بل يتم تخليقها استجابة الى وجود مواد تفاعل معينة ، حيث تكون الجينات المسيطرة على تخليق هذه الانزيمات في حالة كبح Repression وعند وجود عامل مستحث Inducing Agent يتم تنشيطها أو ازالة الكبح Derepression استجابة لهذا العامل .

الفصل الثاني

توليد ونقل الطاقة الحيوية

Generation and Transfer of Biological Energy

1. مقدمة
2. مفهوم الطاقة الحرة
3. المركبات الغنية بالطاقة
4. مسارات انتقال مجاميع الفوسفات
5. دور مركبات الفوسفات الغنية بالطاقة في مسارات التخليق الحيوي

1 . مقدمة

بعد استعراض الاسس والمبادئ العامة التي تحكم المسارات الايضية ومسارات نقل الطاقة في الخلايا ، ينبغي مناقشة مسارات توليد ونقل الطاقة الحيوية بشيء من التفصيل ، اذ أنها تشكل ركنا مهما في حياة الخلية لا غنى لها عنه .

ان معرفة تفاصيل مسارات الايض الوسطي Intermediary Metabolism تتطلب استيعاب وفهم أساليب الخلية في استغلال الطاقة الكيميائية الموجودة في البيئة المحيطة لتسيير فعاليتها الحيوية . وفي هذا المجال نؤكد مفهوم دورة الطاقة الذي يتضمن تكسير جزيئات مختلفة تحتوي على طاقة كيميائية كامنة (بمثابة جزيئات وقود) بواسطة تفاعلات انزيمية لانتاج مركبات غنية بالطاقة . ومن أهم المركبات النية بالطاقة والتي تؤدي دورا أساسيا في دورة الطاقة ثلاثي فوسفات الادينوسين (ATP) وثلاثي فوسفات الادينوسين (ADP) ، اذ أن كلا منهما قابل للتحويل الى الآخر . ويعمل ثلاثي فوسفات الادينوسين (ATP) كمصدر رئيس للطاقة اللازمة لتسيير العديد من تفاعلات التخليق الحيوي اضافة الى بعض العمليات الحيوية كالحركة والافراز والامتصاص . ولغرض فهم تغيرات الطاقة لنظام ATP-ADP وغيرهما من المركبات الغنية بالطاقة فان من الضروري تعريف وتوضيح

بعض المصطلحات الاساسية في مجال الديناميكا الحرارية Thermodynamics ومن ثم تصنيف المركبات النية بالطاقة ومعرفة دورها في المسارات الايضية .

2. مفهوم الطاقة الحرة

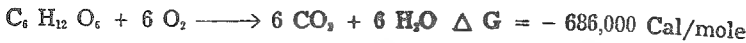
تعد الطاقة الحرة من أكثر مفاهيم الديناميكا الحرارية أهمية في مجال توليد ونقل الطاقة الحيوية ، اذ أن لكل مادة محتوى معيناً من الطاقة الحرة (G) إلا أنه ليس بالإمكان قياس هذا المحتوى للمادة (A) مثلاً مختبرياً . ولكن من الممكن قياس التغير في الطاقة الحرة (ΔG) عند تحول A الى B في تفاعل كيميائي :



اذ يمكن في ضوء هذا التفاعل تعريف التغير في الطاقة الحرة ΔG بأنه أكبر مقدار من الطاقة يصبح متاحاً عند تحول A الى B . ويمكن حساب ΔG لهذا التفاعل كالآتي :-

فإذا كان محتوى الطاقة الحرة للناتج B (G_B) أوطأ من محتوى الطاقة الحرة للمادة المتفاعلة A (G_A) فإن ΔG للفاعل يكون كمية سالبة ، أي يساحب حدوث هذا التفاعل انخفاض في الطاقة الحرة . وبالمقابل فإن التفاعل الذي يحدث فيه إعادة تحول B الى A يكون مصحوبا بزيادة في الطاقة الحرة مما يجعل ΔG كمية موجبة . وبصورة عامة تكون التفاعلات التي تحدث تلقائيا Spontaneously مصحوبة بانخفاض في الطاقة الحرة أي ($\Delta G < 0$) . وعلى العكس من ذلك فإن التفاعلات التي يكون فيها ΔG كمية موجبة لا تحدث دون امدادها بمقدار من الطاقة الضرورية لتسيبها . ويصطلح على تسمية التفاعلات التي لها ΔG سالبة باسم Exergonic Reaction وتلك التي لها ΔG موجبة باسم Endergonic Reaction .

ومن الضروري التنويه الى عدم وجود أية علاقة بين كون ΔG كمية سالبة لتفاعل ما وبين السرعة التي يسير بها ذلك التفاعل . ولتوضيح ذلك لنلاحظ تفاعل أكسدة سكر الجلوكوز بواسطة الاوكسجين الى ثاني اوكسيد الكربون والماء :



ان تفاعل الأكسدة هذا يجري في ثوان معددة عند توفر العامل المساعد المناسب في المسعر القنبلي Bomb Calorimeter كما أنه يتم في الخلايا الحية بسرور متفاوتة تتراوح بين عدة دقائق الى عدة ساعات . بيد أن الجلوكوز يبقى ثابتا دون أكسدة ولسنوات عند وضعه في قنينة وبوجود الهواء . لذا فإن كون تغير الطاقة الحرة لتفاعل ما كمية سالبة يعد دلالة على تلقائية حدوث التفاعل عند توفر الظروف المناسبة والعوامل المساعدة (كالانزيمات) وليس على السرعة التي يسير بها ذلك التفاعل . ويرتبط تغير الطاقة الحرة للتفاعل بمتغيرات الديناميكا الحرارية الاخرى للمادتين A و B بواسطة العلاقة التالية :-

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S$$

حيث أن :

$\Delta H = \text{Change in Enthalpy} =$ التغير في المحتوى الحراري الذي يطرأ
عند حدوث التفاعل تحت ضغط ثابت .

$\Delta S = \text{Change in Entropy} =$ التغير الذي يطرأ على درجة العشوائية
في نظام ما .

$T =$ درجة الحرارة المطلقة

يلاحظ من المعادلة ان زيادة مقدار الانتروبي **Entropy** للناتج مقارنة بالمواد المتفاعلة يجعل قيمة ΔS موجبة اكثر وبالتالي يؤدي الى جعل قيمة ΔG سالبة اكثر . وكذلك ترتبط قيمة ΔG بتراكيز الناتج والمواد المتفاعلة اذ تستغل هذه العلاقة في حساب وتقدير ΔG كما هو موضح فيما يلي بالنسبة لتفاعل تحول
المادة **A** الى المادة **B** :-

$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + RT \ln \frac{[A]}{[B]}$$

حيث أن :

$\Delta G^{\circ} = \text{Standard Change in free energy} =$ تغير الطاقة الحرة القياسي
ويعرف بأنه تغير الطاقة الحرة عندما تكون النواتج والمواد المتفاعلة موجودة في
حالاتها لقياسية Standard State ، أي مذابة بتراكيز مساوية الى 1 M ،
أو ضغط جوي واحد للغازات ، أو وحدة فعالية واحدة Unit Activity بالنسبة
للمذيبات المشتركة في التفاعل (كالمام) .

الثابت الغازي $R = 1.987 \text{ cal/mole-deg} =$

درجة الحرارة المطلقة $T =$

تركيز الناتج معبراً عنه بوحدات مول/لتر $[B] =$

تركيز المادة المتفاعلة معبراً عنه بوحدات مول/لتر $[A] =$

ولنرض حساب قيمة ΔG° يؤخذ بنظر الاعتبار الحالة عند الاتزان أي عندما
لا يكون هناك تحول صافي Net Conversion من A الى B وتكون قيمة ΔG
عندها مساوية الى الصفر . كذلك تكون النسبة بين $\frac{[B]}{[A]}$ مساوية الى النسبة
عند الاتزان أي مساوية الى ثابت اتزان التفاعل (K_{eq}) . وفيما يلي توضيح
لهذه العلاقات :-

ويرمز لتغير الطاقة الحرة القياسي عند أي أس هيدروجيني عندا pH صفر $[H^+] = 1M$ بالرمز ΔG° بدلا من ΔG أما عند عدم استهلاك وتكوين البروتونات في تفاعل ما ، فإن ΔG° سوف تكون مساوية الى ΔG .

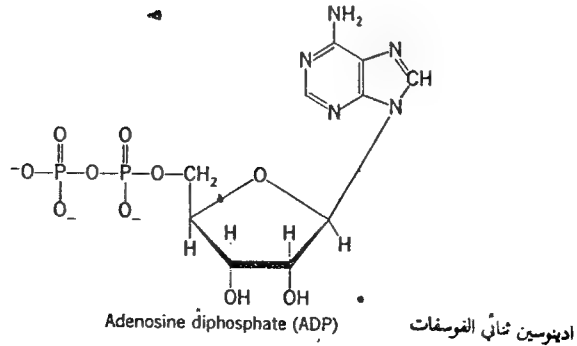
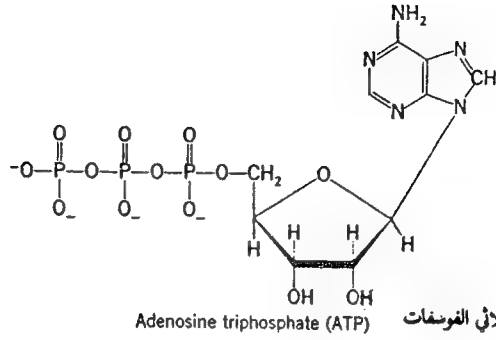
3. المركبات الغنية بالطاقة

تتميز المركبات الغنية بالطاقة **Energy-Rich Compounds** أو كما تعرف أيضا بمركبات الطاقة العالية بكون تفاعلات تحليلها المائي مصحوبة بانخفاض كبير في الطاقة الحرة ، وكذلك بكونها قلقة في الوسط الحامضي والقلوي ، وايضا تجاه الحرارة .

ان من أهم المركبات التابعة لهذه المجموعة هو ثلاثي فوسفات الادينوسين **ATP** الذي ينتشر في جميع أنواع الخلايا الحية ، اذ يعمل هذا المركب وبصورة مستمرة كمادة تفاعل مشتركة رابطا بين التفاعلات من نوع **Endergonic** والتفاعلات من نوع **Exergonic** . ان ثنائي **ATP-ADP** أو كما يسمى نظام **ATP-ADP** يلعب دورا أساسيا في تفاعلات وعمليات نقل الطاقة . ونظرا لاهمية هذه المجموعة من المركبات في المسارات والتفاعلات الايضية المختلفة ولغرض فهم الدور الذي تقوم به لا بد من الوقوف على طبيعة تركيبها الكيماوي وذلك من خلال تقسيمها بالشكل الاتي :-

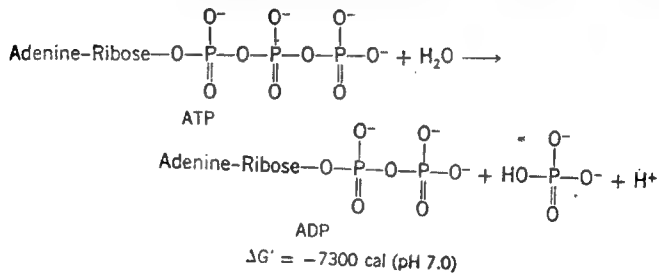
1.3. مركبات البيروفوسفات Pyrophosphate Compounds

وهذه المركبات هي من نوع نيوكليوسيد -5- ثلاثي الفوسفات وتقع ضمنها مركبات **ATP** و **UTP** و **CTP** و **GTP** . الا ان أكثرها أهمية هو **ATP** المبين في الشكل (1.2) وذلك لكونه الناقل الرئيس لمجاميع الفوسفات في عمليات نقل الطاقة بالخلية . ويبلغ مجموع تراكيز **ATP** و **ADP** و **AMP** في الخلية مقدارا يتراوح بين (2 — 15 mM) اذ يكون تركيز **ATP** أعلى بكثير من مجموع تركيز المركبين الاخرين .

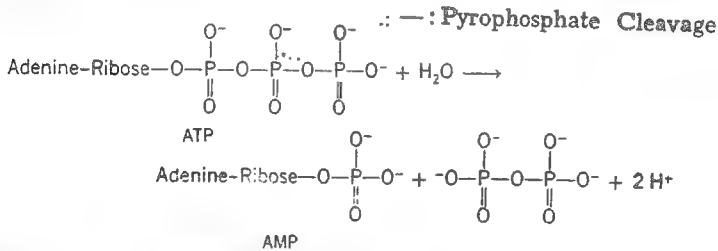


الشكل (1.2) : الصيغ التركيبية لكل من ATP و ADP

وتتحلل مجموعة الفوسفات الطرفية في ATP تحللا مائيا يسمى تكسر الاورثوفوسفات Orthophosphate Cleavage وكما هو موضح في المادلة التالية ، اذ يكون مصحوبا بانخفاض في الطاقة الحرة وينتج عنه ADP وفوسفات لا عضوية .



وبذلك من مصادر هذا المصاحف هي مصادر ومصادر أخرى. فانه هناك عددا من التفاعلات المهمة التي يتم خلالها كسر رابطة البيروفوسفات الداخلية للـ **ATP** لاعطاء احادي فوسفات الادينوسين **AMP** وبيروفوسفات لا عضوية. ويعرف هذا النوع من التحلل باسم تكسر البيروفوسفات



$$\Delta G' = -8600 \text{ cal (pH 7.0)}$$

واخيرا فان نواتج هذه التفاعلات (**ADP** و **AMP**) تتحول ثانية الى **ATP**

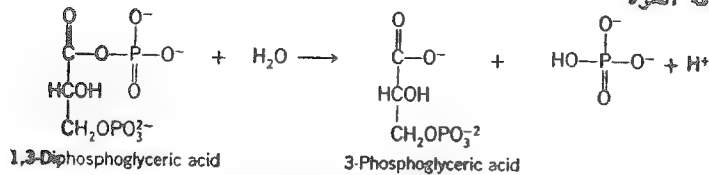
بفضل الطاقة الناتجة عن التفاعلات الايضية المنتجة للطاقة **Exergonic Reactions**

2.3 مركبات فوسفات الاسيل Acyl Phosphate Compounds

ومن أبرز الامثلة على هذا النوع من المركبات الغنية بالطاقة هو حامض

1, 3 - ثنائي فوسفو جليسيريك ، اذ يكون تحلله المائي مصحوبا بانخفاض كبير في

الطاقة الحرة .



$$\Delta G' = -11,800 \text{ cal (pH 7.0)}$$

2.3 مركبات الفوسفات الاينولية Enolic Phosphate Compounds

ويتبع لهذه المجموعة أكثر المركبات غنى بالطاقة وهو حامض فوسفواينول

بيروفيك الذي يعطي عند تحلله مائيا طاقة حرة مساوية لـ 14,800 . سعرة

عند $\text{pH} = 7.0$. ويرجع السبب في كون هذا المركب من أكثر المركبات غنى

بالطاقة الى الانخفاض الكبير في الطاقة الحرة المصاحبة لتحلله المائي وعملية

الـ **Tautomerization** وكما هو مبين في الاتي :-



4.3. أسترات الثيول Thiol Esters

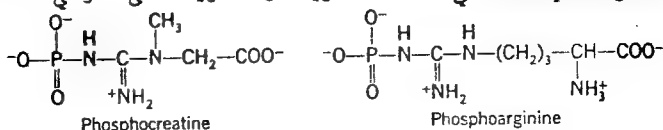
$$\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\underset{\text{Acetyl-CoA}}{\text{C}}}-\text{S}-\text{CoA} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\underset{\text{Coenzyme A}}{\text{C}}}-\text{O}^- + \text{CoA-SH} + \text{H}^+$$

$$\Delta G' = -7500 \text{ cal (pH 7.0)}$$

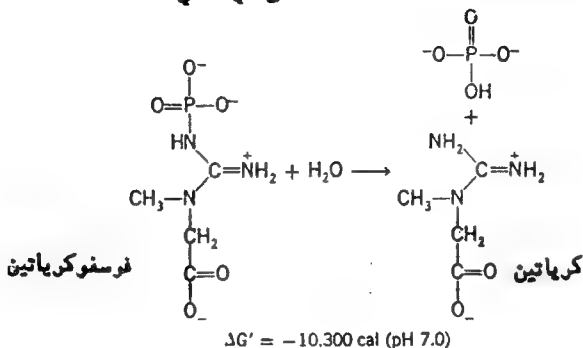
Guanidinium Phosphates فوسفات الجوانيدينيوم

ويعرف هذا النوع من المركبات باسم الفوسفاجينات Phosphagens حيث يوجد بصورة فوسفوكرياتين Phosphocreatine وفوسفوارجينين

Phosphoarginine في عضلات الفقريات واللافقريات علم التوالد .



ويتحلل هذا النوع من المركبات مائيا ويكون التفاعل مصحوبا بتغير في الطاقة الحرة مقداره 10,300 — سعرة وكما هو موضح في الاتي :-



٤. مسارات انتقال مجاميع الفوسفات

تتم تفاعلات انتقال الفوسفات في الخلية بفعل الانزيمات حيث يؤدي فيها نظام ATP-ADP دورا يمد بمثابة الحلقة الرابطة الضرورية بين مركبات الفوسفات الغنية بالطاقة ومركبات الفوسفات ذات الطاقة الواطئة . وتنتقل مجاميع الفوسفات بفعل انزيمات متخصصة تقوم بتحفيز تفاعلات الانتقال التي تحدث في خطوتين أو تفاعلين .

التفاعل الاول ، هو تفاعل انتقال مجاميع الفوسفات من المركبات الغنية بالطاقة الى ADP بفعل انزيمات متخصصة من مجموعة الفوسفوترانسفيرازات وينتج عن هذه الخطوة ATP وفي التفاعل الثاني تمد ATP الناتجة بمثابة مانح الفوسفات Phosphate Donor لينتج مركب فوسفاتي ذو طاقة واطئة بفعل انزيم متخصص أيضا . وفيما يلي مثال على تفاعلات الانتقال هذه :-

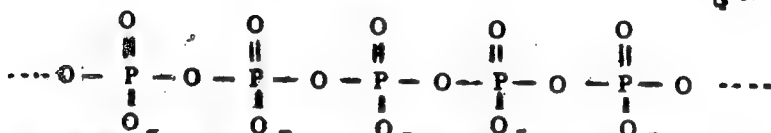


ويكون التفاعل الصاف كالآتي :-



ويلاحظ من هذه التفاعلات أن المحصلة النهائية هي انتقال مجموعة فوسفات من مركب غني بالطاقة (فوسفواينولبيروفات) الى مركب ذي طاقة واطئة (D — جلوكوز 6 — فوسفات) عبر نظام ATP-ADP الذي يمد وسيطا في تفاعلات الانتقال هذه . كما ينتج عن تفاعل الفسفرة رفع المحتوى الطاقي للجلوكوز . وعموما لا تحتوي الخلايا على انزيمات لتحفيز تفاعلات انتقال مباشرة (بخطوة واحدة) للفوسفات من مركب غني بالطاقة (1 , 3 — ثنائي فوسفو جليسرات مثلا) الى مستقبل غني بالطاقة أيضا (بيروفات مثلا لتكوين فوسفواينول بيروفات) . وكذلك بالنسبة لانتقال الفوسفات من مركب ذي طاقة واطئة (جليسرول 3 — فوسفات مثلا) الى مستقبل ذي طاقة واطئة (مثلا D-جلوكوز لتكوين D — جلوكوز 6 — فوسفات) . وهنا ينبغي ثانية تأكيد أهمية الدور الذي يلعبه نظام ATP-ADP كحلقة رابطة تجري عبرها تفاعلات انتقال الفوسفات في الخلية .

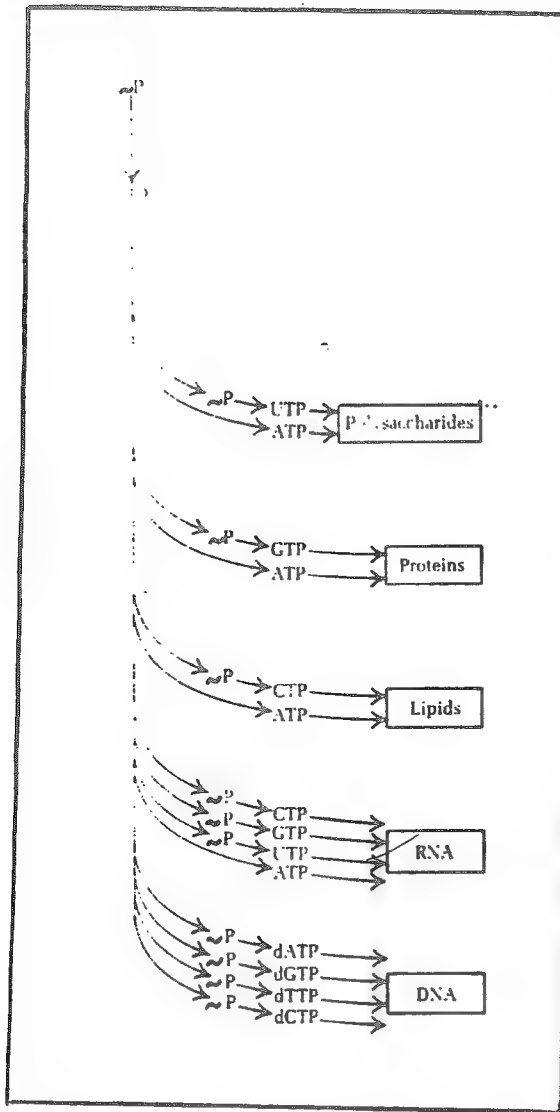
وسما يجدر الاشارة اليه قيام بعض الاحياء المجهرية بخزن مجاميع فوسفات غنية بالطاقة بصورة بوليمر فوسفاتي هو ميتافوسفات متعدد **Poly metaphosphate** الذي يكون ذا حجم غير محدود وتركيب مستقيم غير متفرع كما هو موضح في الاتي :-



وتعرف هذه الحبيبات باسم الحبيبات الميتاكروماتية **Metachromatic Granules** حيث تتصبغ بصورة متميزة عند تصنيفها بالصبغات القاعدية . في حين يتم الحصول على مجاميع الفوسفات من الميتافوسفات المتعدد بفعل انزيمات متخصصة .

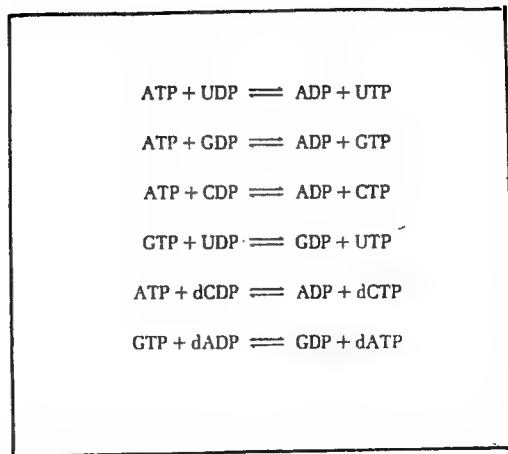
5. دور مركبات الفوسفات الغنية بالطاقة في مسارات التخليق الحيوي

اضافة الى الدور الذي يلعبه نظام **ATP-ADP** كناقل رئيس للفوسفات في عمليات وتفاعلات نقل الطاقة في الخلية ، فان مركبات اخرى نوكلهوسيدية ثنائية وثلاثية الفوسفات (رايبونوكليوسيدات و 2- دي اوكسي رايبونوكليوسيدات) تشترك ايضا في نقل الطاقة في الخلية . اذ تقوم هذه المركبات باعداد تفاعلات معينة في مسارات التخليق الحيوي بمجاميع فوسفاتية غنية بالطاقة فضلا عن ان بعضها يمد مركبات اولية او مولدات **Precursors** في تخليق **RNA** كما هو موضح في الشكل (2.2) . ويقوم انزيم نوكلهوسيد داي فوسفوكينيز بربط مسارات اعداد الطاقة لهذه المركبات مع **ATP** ، اذ يحفز هذا الانزيم تفاعلات من النوع الموضح في الشكل (3.2) . ومن المعروف عن هذا الانزيم انه يتواجد في الميتوكوندريا والجزء الدائب من السايتموبلازم . كما يلاحظ انه غير متخصص نسبيا بالنسبة لمواد تفاعله . اذ يقوم بتنفيذ انتقال مجاميع الفوسفات بين **ATP** واي نوكلهوسيد ثنائي الفوسفات (**XDP**) وكذلك بين اي نوكلهوسيد ثلاثي الفوسفات (**XDP**) ونوكلهوسيد ثنائي الفوسفات (**XDP**) بغض النظر عن نوع القاعدة النتروجينية .



الشكل (2.2) امداد مسارات التخليق الحيوي المختلفة

• بجميع الفوسفات ذات الطاقة العالية



الشكل (3.2) التفاعلات التي يحفزها انزيم نيوكليوسيد داي فوسفوكينيز

Nucleoside diphospho kinase

الفصل الثالث

الأيض اللاهوائي للكربوهيدرات

Anaerobic Metabolism of Carbohydrates

1. مقدمة
2. مراحل التحلل الجلايكولي
3. تفريغ الطاقة في التحلل الجلايكولي
4. استخدام كربوهيدرات أخرى في التحلل الجلايكولي
5. تنظيم التحلل الجلايكولي

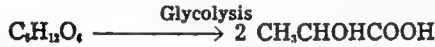
1. مقدمة

تمد الكربوهيدرات ، سواء كانت بهيئة سكريات أحادية أو ثنائية أو متعددة ، مصدر الطاقة الرئيس للكائنات الحية . إذ تقوم الخلايا باستخلاص الطاقة الكيميائية من الجلوكوز أو جزيئات أخرى تعمل كجزيئات وقود **Fuel Molecules** بنجاش الاوكسجين الجزيئي أي بممزل من الهواء . وتتشابه الاحياء الهوائية واللاهوائية في المراحل الاولى من المسار وذلك بمدم حصول اكسدة صافية **Net Oxidation** للجزيئة الوقودية بل تكون الحالة التاكسدية **Oxidation State** للناتج بنفس مستوى الحالة التاكسدية للجزيئة الوقودية (عملية التخمير) . والمعروف أن الاحياء اللاهوائية تقسم الى قسمين : - الاحياء اللاهوائية اجبارا **Obligative anaerobes** والاحياء اللاهوائية اختيبارا **Facultative anaerobes** . إذ تمد الاحياء اللاهوائية اجبارا هي الاكشر بدائية (من ناحية التطور) وتضم أنواعا قليلة من البكتريا مثل بكتريا الميثان وبكتريا النتروجين وبكتريا الكلوستيريديا **Clostridia** وبمض اللاقصرات الواطنة . أما الاحياء اللاهوائية اختيبارا فانها تضم عددا كبيرا من الانواع والاجناس المختلفة من ضمنها بكتريا حامض اللاكتيك والخميرة . وعند نمو هذه الاحياء تحت الظروف اللاهوائية فانها تحصل على الطاقة الضرورية لفعالياتها المختلفة من تخمير الجلوكوز بمعمليات ماثلة أو مشابهة لتلك التي تحدث في الاحياء اللاهوائية اجبارا . أما عند نموها هوائيا فانها تستمر في تكسير الجزيئات الوقودية من خلال المسار اللاهوائي ومن ثم اكسدة ناتجه بفصل الاوكسجين الجزيئي . وبكلمة أخرى يكون المسار اللاهوائي في الاحياء الاختيبارية بمثابة مرحلة اولى اجبارية تجري قبل المسار الهوائي (التنفس) . ويمد هذا التسلسل في المسارات بمثابة سمة مميزة ليس فقط للعديد من البكتريا والخمائر والاعفان وانما أيضا للنباتات والحيوانات الراقية .

ومن اكشر الجزيئات الوقودية شيوعا في التخمير اللاهوائي هي السكريات السداسية وخاصة D - جلوكوز ، ويمكن تقسيم انواع تخمير الجلوكوز الى قسمين اصليين :

1. التخمر اللاكتيكي المتجانس Homolactic Fermentation :

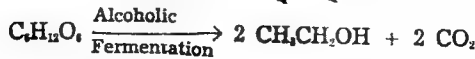
يتم في هذا النوع من التخمر تكسير جزيئة الجلوكوز السداسية الكربون الى جزيئتين من حامض اللاكتيك الثلاثي الكربون كناتج وحيد :



ويصطلح على تسمية هذا النوع من مسارات تكسير الجلوكوز بالتحلل الجلايكولي Glycolysis ونعني انحلال السكر Dissolution of Sugar . ويلاحظ وجود هذا المسار في العديد من انواع الاحياء المجهرية .

2. التخمر الكحولي Alcoholic Fermentation :

ويتم في هذا النوع من التخمر تكسير جزيئة الجلوكوز الى جزيئتي كحول ايثيلي ثنائية الكربون وجزيئتي ثاني اوكسيد الكربون .



ويتم التخمر الكحولي بفعل نفس المسار الانزيمي للتحلل الجلايكولي وبزيادة نطوتين انزيميتين اضافيتين يجري بواسطتهما تكسير النواتج الثلاثية الكربون الناتجة من تكسير الجلوكوز وتحويلها الى كحول ايثيلي وثاني اوكسيد الكربون .

ان معظم انواع تخمر الجلوكوز الاخرى ما هي الا تحويلات في المسار الاساس للتحلل الجلايكولي وذلك تبعا لنوع الكائن الحي . فالتخمر اللاكتيكي المختلط أو غير المتجانس Heterolactic or Mixed Lactic Fermentation يعطي نواتج نهائية تشتمل على جزيئة واحدة من كل من حامض اللاكتيك والكحول الإيثيلي وثاني اوكسيد الكربون . كذلك ينتج في بعض انواع تخمر السكريات حامض البروبيونيك وحامض البيوتيريك وحامض السكسينيك والاسيتون كنواتج نهائية .

2. مراحل التحلل الجلايكولي

تشترك في تحفيز تفاعلات مسار التحلل الجلايكولي مجموعة مؤلفة من أحد عشر انزيما تسيير تفاعلاتها بصورة متعاقبة ومتصلة . ويمكن تقسيم تفاعلات المسار الى مرحلتين :

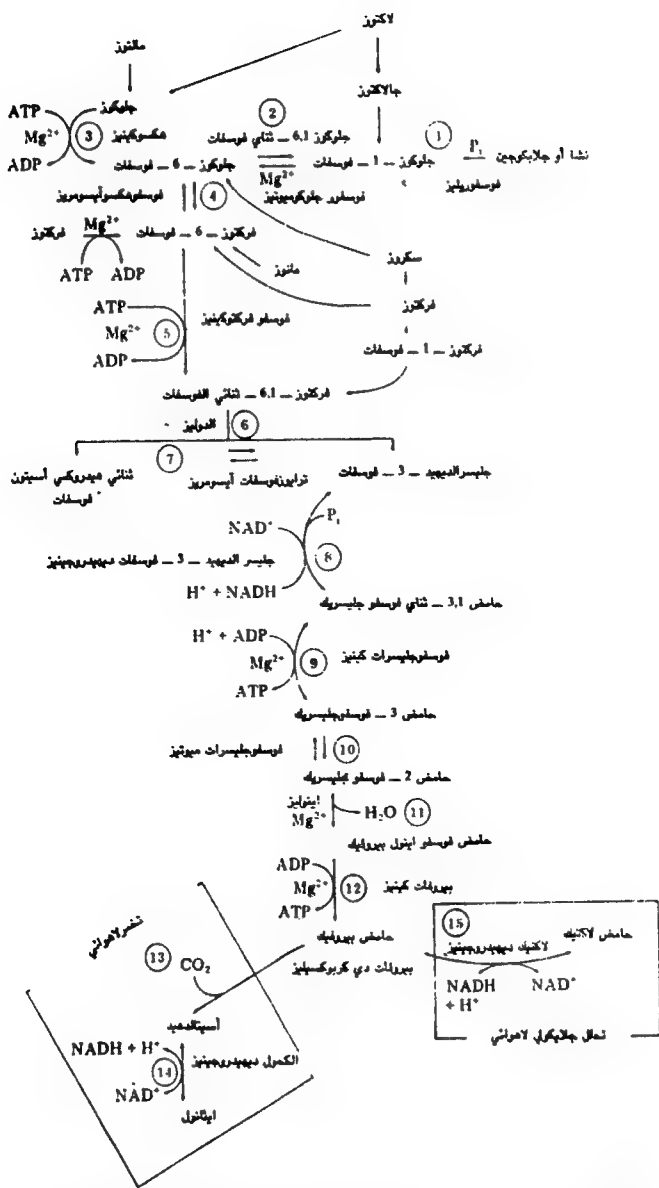
1. المرحلة الاولى :- وتشمل جميع السكريات البسيطة وتحويلها الى جليسرالدهيد 3 - فوسفات حيث تستهلك فيها جزيئتا ATP .

2. المرحلة الثانية :- وتشمل تفاعلات الاكسدة والاختزال التي يرافقها انتاج ATP وحامض اللاكتيك أو الكحول الايثيلي وثاني اوكسيد الكربون تبعا لنوع المسار .

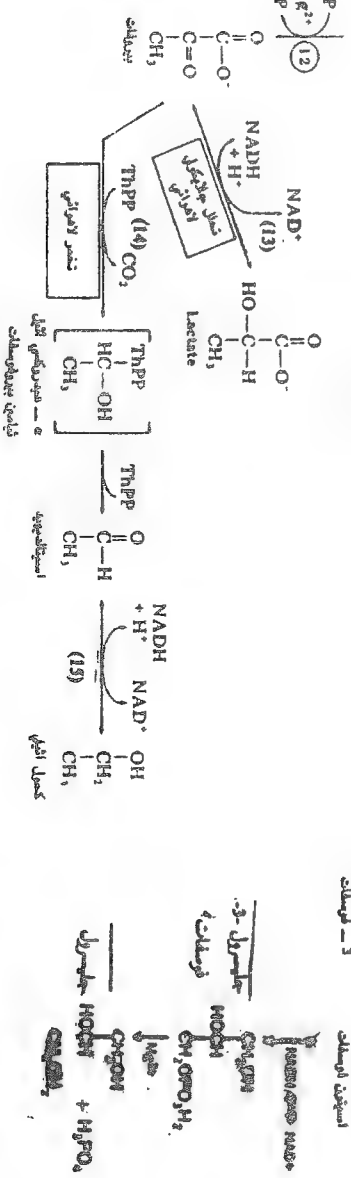
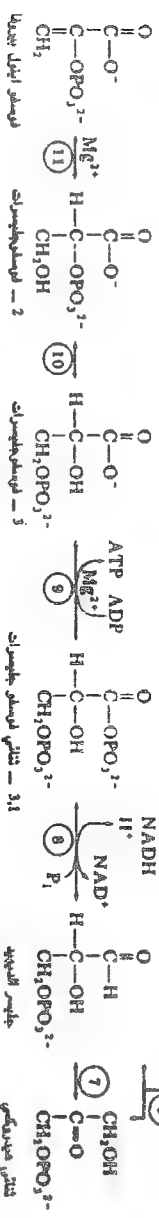
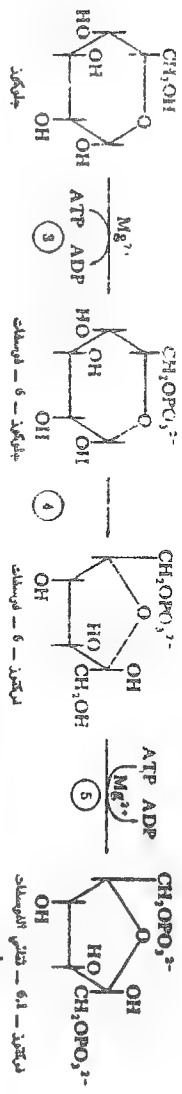
ومن المفيد تثبيت الملاحظات التالية حول مساري التحلل الجلايكولي والتخمير الكحولي الموضحين في الشكل (1.3) والشكل (2.3) .

1. تماثل التفاعلات التي يتكون منها كلا المسارين بدءا بالمركب جلوكوز .. 6- . فوسفات ولغاية حامض البيروفيك . ويختلف المساران في كيفية تحويل حامض البيروفيك وكذلك في الاساليب المتبعة في اعادة تحويل NADH الى NAD^+ . اذ يكون التفاعل بين البيروفات و NADH في التحلل الجلايكولي تفاعلا مباشرا بوجود انزيم لكتات ديهيدروجينيز وينتج عن هذا التفاعل حامض اللاكتيك واعادة تكوين NAD^+ (التفاعل 13) . اما في التخمر الكحولي فيتم اولا تفاعل ازالة الكربوكسيل من حامض البيروفيك ليتحول الى اسيتالدهيد (التفاعل 14) ومن ثم اختزال الاسيتالدهيد المتكون الى كحول بواسطة NADH (التفاعل 15) .
2. يعد التفاعل (6) من التفاعلات التي يمتاز بها المسار ، اذ يتم فيه كسر رابطة C-C ويتحول على اثرها سكر من نوع كيتوهكسوز - ثنائي الفوسفات الى جزيئين من ترايوز-فوسفات الثلاثي بفعل انزيم آلدوليز .
3. ان تفاعل الاكسدة والاختزال المتميز في المسار هو التفاعل (8) الذي يتحول فيه جليسرالدهيد 3 - فوسفات الى 1,3 - ثنائي فوسفوجليسرات ، والمركب الاخير يعد من المركبات الفنية بالطاقة (راجع الفصل الثاني من هذا الباب) . ويقوم بتحفيز هذا التفاعل انزيم D-جليسرالدهيد 3- فوسفات ديهيدروجينيز ، وايضا يشترك في التفاعل NAD^+ والفوسفات اللاعضوية . وكذلك فان التفاعل (7) يضمن حدوث التحويل المتبادل Interconversion لجزيئتي ترايوز فوسفات الناتجة من التفاعل (6) مما يؤمن اشتراكهما في التفاعل (8) .

4. ان دخول كل جزيئة جلوكوز في المسار يرافقه استهلاك جزيئتي ATP (التفاعل 3 و 5) و انتاج اربعة جزيئات (جزيئة لكل سكر ثلاثي في



الشكل 1.3. مساري تفاعل التحلل الجلايكولي والتخمير الكحولي



المسار 3: اقتران أكسدة والاختزال في التحلل الجلدي والانسداد الكهربي

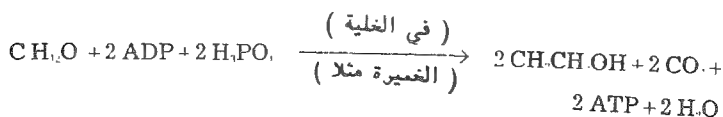
ولمعرفة هذا الفارق في تغير الطاقة الحرة بين التفاعلين ينبغي أن نتذكر بأن كل ATP تنتج تمثل طاقة محفوظة تعادل 7300 سعرة ، أي أن مقدار الطاقة المحفوظة بصورة ATP يساوي : $14600 = 7300 \times 2$ سعرة .
في حين مقدار التغير في الطاقة الحرة للتفاعل الثاني هو :

$$- 32400 \text{ cal.} = - (14600) - 47000$$

أما كفاءة إنتاج ATP وحفظ الطاقة في التحلل الجلايكولي فيتم حسابه كالآتي :-

$$\frac{- 14600}{- 47000} \times 100 = 31 \%$$

وعند تحويل الجلوكوز الى كحول اثيلي وثاني اوكسيد الكربون خارج دناخل الخلية فان تغيرات الطاقة الحرة تكون كما يلي :-



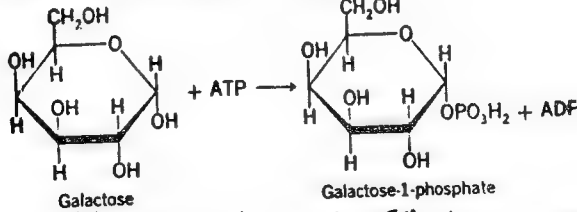
$$\Delta G' = -25400 \text{ cal.}$$

ويتم حساب الكفاءة بنفس الطريقة السابقة .

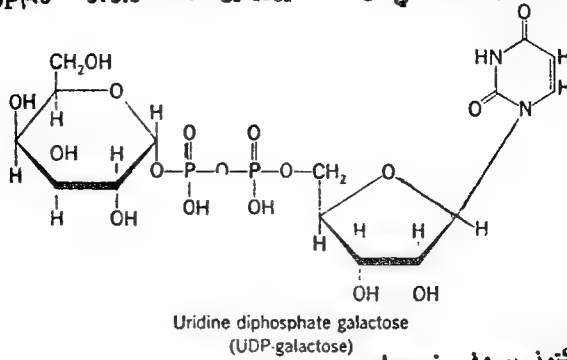
4. استخدام كربوهيدرات أخرى في التحلل الجلايكولي

لا يقتصر مسار التحلل الجلايكولي على الجلوكوز فقط بل يتعداه الى سكريات أخرى يتم تأييضها خلال المسار وذلك بعد تحويلها الى مركبات وسطية بفعل انزيمات متخصصة . فالفركتوز والمانوز على سبيل المثال ، يتم فسفرتهما وتحويلهما الى فركتوز-6 - فوسفات ومانوز-6 - فوسفات على التوالي بواسطة ATP . وبفعل انزيم هكسوكينيز . ونظرا لكون فركتوز-6 - فوسفات من المركبات الوسطية في مسار التحلل الجلايكولي فانه يدخل المسار مباشرة . في حين يتحول مانوز-6 - فوسفات الى فركتوز-6 - فوسفات بفعل انزيم فوسفو مانوز ايسوميريز . وتحلل السكريات الشائبة مائيا بفعل انزيمات متخصصة من مجموعة الجلايكوسيديزات

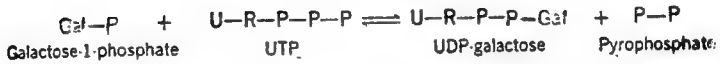
مثل اللاكتينز (يحلل اللاكتوز مائيا) والانفرتيز (يحلل السكروز مائيا) الى السكريات الاحادية المكونة لها . وتدخل نواتج التحلل المائي للسكروز (جلوكوز + فركتوز) المسار كما سبق توضيحه ، في حين يجري ايض الجالاكتوز الناتج عن التحلل المائي لسكر اللاكتوز (اضافة الى الجلوكوز) بصورة متمايزة لا يشاركها المانوز والفركتوز . اذ تشمل الخطوة الاولى فسفرة الجالاكتوز بواسطة ATP وبفعل انزيم جالاكتوكينيز متخصص وبالتالي تحويله الى جالاكتوز-1- فوسفات كالآتي :-



وبعد ذلك يجري تحويل جالاكتوز-1- فوسفات الى UDP- جالاكتوز . الموضنح تركيبه ادناه ، بواسطة ثلاثي فوسفات اليوريدين UTP وبوجود انزيم UDP-

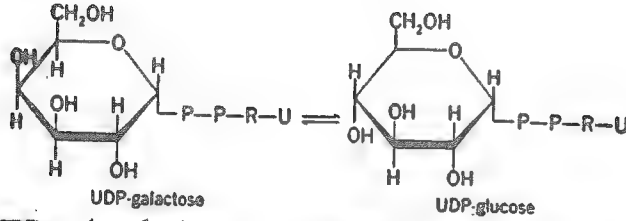


جالاكتوز يوروفوسفوريلين :-

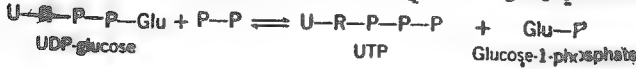


حيث أن U = يوريدين و R = رايبوز و P = فوسفات

وتتضمن الخطوة الثالثة عملية تحويل ايسومرية Isomerization للجالاكتوز الموجود في UDP- جالاكتوز الى الجلوكوز ، اذ يتحول UDP- جالاكتوز الى UDP- جلوكوز بفعل انزيم UDP- جلوكوز ايبيميريز كالآتي :-



وفي الخطوة الأخيرة يتحور الجلوكوز (سابقا الجالاكتوز) من UDP - جلوكوز بفعل انزيم UDP - جلوكوز بيروفوسفوريليز وذلك بصورة جلوكوز-1- فوسفات الذي يدخل بدوره في مسار التحلل الجلايكولي :



٥. تنظيم التحلل الجلايكولي

تحتاج الخلية الى مستوى جيد من السيطرة على التحلل الجلايكولي لضمان الحصول على الطاقة من الكربوهيدرات فقط عند الحاجة اليها . اذ يبدي الاوكسجين الجزيئي تأثيرا مثبطا على المسار اذ على تحويل الجلوكوز الى حامض اللاكتيك ، أو الكحول الايثيلي وثاني اوكسيد الكربون . ويعرف تأثير الاوكسجين هذا باسم « تأثير باستور *Pasteur Effect* » . و لا يقتصر هذا التأثير في الاحياء اللاهوائية بل يتعداها الى الاحياء والانسجة الهوائية التي تستطيع اكسدة حامض البيروفيك اكسدة تامة الى ثاني اوكسيد الكربون والماء . اذ يمكن لخلل هذه الاحياء الاستفادة من الجلوكوز في غياب الاوكسجين الجزيئي بصورة افضل مما في وجوده . ان هذا التأثير التثبيطي للاوكسجين يعود الى المقدار الكبير من الطاقة المتاحة بشكل ATP عند اكسدة الجلوكوز هوائيا الى ثاني اوكسيد الكربون والماء مقارنة بالطاقة الناتجة من تحويل الجلوكوز لا هوائيا الى حامض اللاكتيك أو الكحول الايثيلي وثاني اوكسيد الكربون . وينجم من هذا الفرق في مقدار ATP الناتجة حاجة أقل لاستهلاك الجلوكوز المطلوب لاداء النشاطات وتسيير العمليات الحيوية في الخلية وبالتالي تشييط مرعة المسار بوجود الاوكسجين الجزيئي .

الفصل الرابع

مسار فوسفات البنتوز

Pentose Phosphate Pathway

1. مقدمة
2. مراحل مسار فوسفات البنتوز
3. مسار انتنر دودوروف Entner-Doudoroff
4. مسار الجلوكيرونات Glucuronate
5. مسارات تخمرية أخرى

لقد أطلق على مسار فوسفات البنتوز عدد من التسميات في فترات زمنية

متباينة منها : مسار حامض الفوسفوجلوكونيك Phosphogluconic acid pathway
دورة الهكسوز احادي الفوسفات "Shunt" Hexose monophosphate
دورة البنتوز Pentose cycle . وأيضا كانت التسمية فان هذا المسار يعد من
سارات أيض الكربوهيدرات الرئيسة في الخلايا . وتتلخص الوظائف التي يقوم
بها هذا المسار في الاتي :-

1- يقوم هذا المسار بامداد الخلية بـ $NADP$ مختزل ($NADPH$) الذي له دور
أساس في تفاعلات التخليق الحيوي (مثل تخليق الاحماض الدهنية
والستيرويدات) .

2. في حالة اكسدة جميع $NADPH$ بصورة تامة ينتج 36 جزيئة ATP لكل
جزيئة جلوكوز تتم اكسدتها . الا ان الشائع عادة هو الحصول على الطاقة
من اكسدة $NADH$ والاستفادة من $NADPH$ في تفاعلات التخليق الحيوي .
3. ان بعض تفاعلات المسار تعد مصدرا للبنتوزات التي تدخل في تركيب
النيوكليوتيدات .

4. ان هذا المسار يجعل من التحويل المتبادل interconversion بين
الهكسوزات والبنتوزات ممكنا .

وستتناول في هذا الفصل السمات المهمة لخطوات ومراحل المسار اضافة الى
بعض المسارات ذات العلاقة والتي توجد في بعض الاحياء المجهرية .

2. مراحل مسار فوسفات البنتوز

يمكن تقسيم تفاعلات هذا المسار الى قسمين اساسيين هما :-

(أ) التفاعلات التأكسدية غير المتعكسة Irreversible Oxidative Reactions

(ب) التفاعلات غير التأكسدية المتعكسة Reversible Non Oxidative Reactions

اذ أن التفاعلات الثلاث الاولى في المسار والتي تحفزها انزيمات جلوكوز -6-
فوسفات ديهيدروجينيز و 6 - فوسفوجلوكونولولاكتونيز و 6 - فوسفو جلوكونات
ديهيدروجينيز هي تفاعلات تأكسدية غير متعكسة كما هو موضح في الشكل

(1.4) • ويلاحظ أيضا اختزال جزيئي NADP إلى NADPH لكل جزيئة جلوكوز فوسفات تدخل المسار • ان التفاعل الاول في المسار مكتوب بصورة تفاعل متعاكس وذلك لان اكسدة NADPH يمكن ان تتم بوجود الانزيم الذي يحفز التفاعل (جلوكوز 6 — فوسفات ديهيدروجينيز) وناتج التفاعل (6 — فوسفوجلوكونو-6-لاكتون) الا ان اللاكتون الناتج يكون قلعا ويتحلل مائيا بصورة تلقائية ليعطي حامض 6 — فوسفوجلوكونيك • ويكون تفاعل التحلل المائي هذا الذي يحفزه انزيم 6 — فوسفوجلوكونولاكتونيز تفاعلا غير متعاكس • ومن أساليب السيطرة الايضية الملاحظة على التفاعل الاول هي كون NADPH والاحماض الدهنية بمثابة مشبطات لانزيم جلوكوز-6 — فوسفات ديهيدروجينيز •

اما التفاعلات التي تتبع النوع الثاني (أي التفاعلات غير التأكسدية المتعاكسة) فتبدأ بالتفاعل الرابع الذي يحفزه انزيم فوسفو رايبوز ايسوميريز ولغاية نهاية المسار • وتوضح الاجزاء المضللة في الشكل (1.4) مجاميع الكيتول التي يتم انتقالها بفعل انزيم ترانس كيتوليز ومجاميع داي هيدروكسي استيون التي يتم انتقالها بفعل انزيم ترانس الدوليز • ويبين الجدول (1.4) الكيتوزات المانحة واللدوزات المستقبلية لمجاميع الكيتول والتي يقوم انزيم ترانس كيتوليز بتنفيذ عملية انتقالها •

الجدول (1.4)

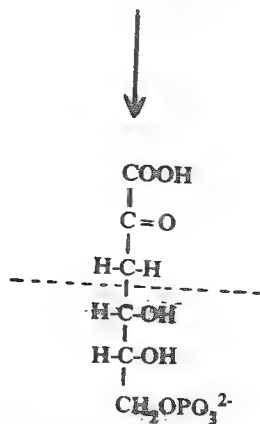
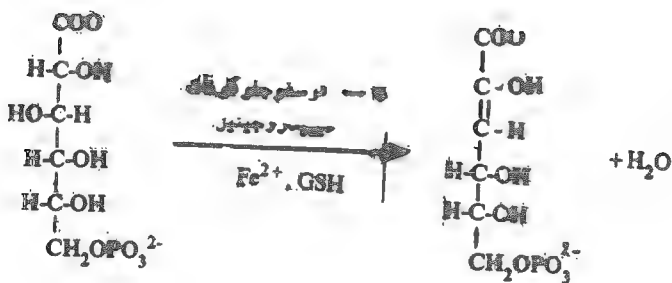
الكيتوزات واللدوزات التي يحفز انزيم ترانس كيتوليز انتقال مجاميع الكيتول فيما بينها

الكيتوزات (مانحات الكيتول)	اللدوزات (مستقبلات الكيتول)
D زايروز-5- فوسفات	D رايبوز-5- فوسفات
D فركتوز-6- فوسفات	D جليسرالدهيد-3- فوسفات
D سيدوهيتولوز-7- فوسفات	D اريثروز-4- فوسفات

إضافة الى وظائف المسار التي ورد ذكرها في بداية الفصل فإن بعض النواتج والمركبات الوسطية فيه تؤدي دورا مهما في مسارات وتفاعلات أيضية أخرى . إذ يعد **NADPH** العامل المختزل في تفاعل اختزال الجلوكوز الى سوربيتول ، واختزال حامض داي هيدروفوليك الى حامض تتراهيدروفوليك ، واختزال حامض جلوكيوروبونيك الى حامض L — جلوكونيك . وكذلك يدخل **NADPH** في تفاعل إضافة الكربوكسيل الاختزالي **Reductive carboxylation** لحامض البيروفيك الذي يتحول الى حامض المالك بفعل انزيم المالك **Malic enzyme** . كما أن للـ **NADPH** دورا متميزا في تفاعلات إضافة الهيدروكسيل **Hydroxylation** التي تتم في مسارات تخليق الاحماض الدهنية غير المشبعة وتحويل الحامض الاميني فنيل الانين الى تيروسين ، وفي تكوين بعض الستيرويدات . أما سكر الرايوز فإن الخلية تحتاجه في تفاعلات التخليق الحيوي للاحماض النووية والنيوكليوتيدات . وتحتاج الاحياء المجهرية الى سكر أريثروز-4 — فوسفات في الخطوة الاولى من مسار التخليق الحيوي الذي يقود الى تكوين حامض الشيكيميك **Shikimic acid** ومن ثم الى عدد من الاحماض الامينية . فضلا عن ذلك يعد فركتوز-6 — فوسفات وجليسيرالدهيد — 3 — فوسفات المتكونان بفعل انزيم ترانس كيتوليز من المركبات الوسطية في مسار التحلل الجلايكولي .

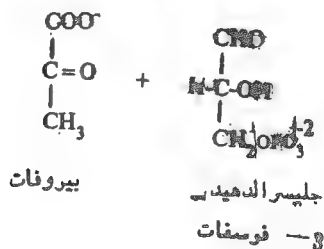
3 . مسار انتنر دودوروف **Entner-Doudoroff**

يقتصر وجود هذا المسار (الى حد الان) على بعض أنواع البكتريا وخاصة **Azotobacter spp. , Pseudomonas spp.** حيث يلاحظ افتقارها الى انزيم فوسفو فركتو كينيز الامر الذي يفقدها القدرة على تكسير الجلوكوز بواسطة مسار التحلل الجلايكولي . وتستطيع مثل هذه الاحياء المجهرية القيام بالايض الهديمي للجلوكوز وذلك بتحويله الى حامض 6 — فوسفوجلوكونيك بواسطة انزيم جلوكوز — 6 — فوسفات ديهيدروجينيز و 6 — فوسفوجلوكولو لاكتونيز على التوالي . ويعتبر تكوين حامض 6 — فوسفوجلوكونيك التفاعلات التالية :-



3- كيتو 3- دى اوكسىزىز - فوسفوجلوكونات

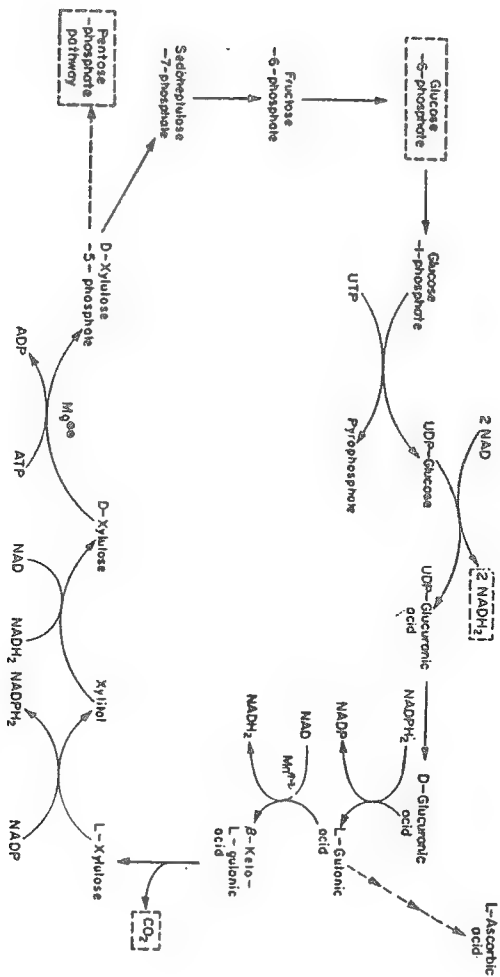
2- كيتو 3- دى اوكسىزىز - فوسفوجلوكونات الدوليز



ويلاحظ من هذه التفاعلات ان الخلية تتمكن بواسطتها من تكسير الجلوكوز الى بيروفات وجليسرالدهيد-3- فوسفات دون المرور بالتحلل الجلايكولي . اضافة الى ذلك فان هذا المسار يسمح باستغلال سكريات اخرى كالجالاكتوز واحماض سكرية مثل حامض D — جلوكيوروبونيك وحامض D — جالاكتيوروبونيك .

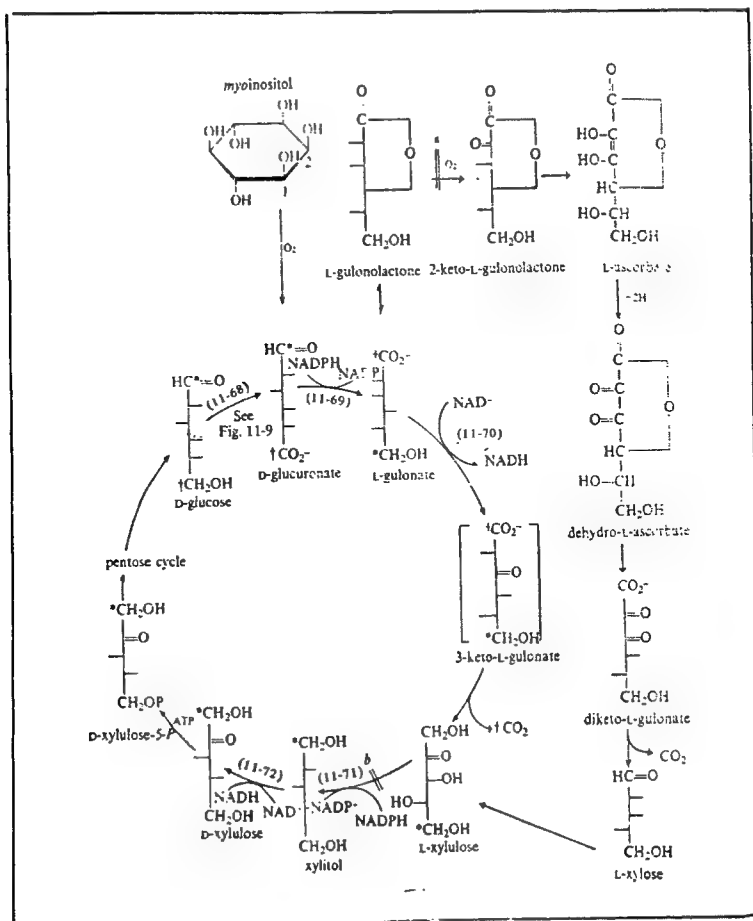
4. مسان الجلوكيورونات Glucuronate Pathway

ان لهذا المسار تسمية اخرى هي دورة حامض الجلوكيورونيك-زايليلوز Glucuronic Acid-Xylulose Cycle . ويختلف هذا المسار عن مسار فوسفات البننوز في أن معظم مركباته الوسطية تكون غير مفسفرة . اذ أن الناية من هذا المسار هو تكسير الجلوكوز بواسطة فقدان ذرة الكربون السادسة بدلا من الاولى . ويلاحظ من الشكل (2.4) ان كل دورة من دورات المسار تستهلك جزيئة UTP واحدة لتكوين UDP — جلوكوز وجزيئة واحدة من ATP لتكوين D — زايليلوز-5- فوسفات كذلك ينتج مول واحد من NADH في تفاعل ازالة الهيدروجين من UDP — جلوكوز . أما بقية عمليات انتقال الهيدروجين فانها لا تسبب تغيرا اجماليا في تركيز NAD⁺ أو NADP⁺ نظرا لوجود نوع من التوزيع الذاتي بين تفاعلات الهدرجة وتفاعلات ازالة الهيدروجين .



6
 The glucuronic acid-xylulose cycle
 الشكل (2.4) دورة حامض الجلوكورونيك والبيروز

وتتجلى أهمية هذا المسار في احتوائه على العديد من المركبات الوسيطة التي تتحول إلى نواتج مشتقة من السكريات بواسطة مسارات فرعية كما هو موضح في الشكل (3.4).

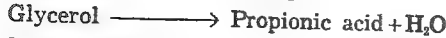


الشكل (3.4) مسارات D-جلوكيرونات-L-جلونات - جلونات
D-Glucuronate-L-gulonate Pathways

ومن أبرز المركبات التي ترتبط بهذا المسار هو حامض الجلوتونيك **gulonic acid** الذي يمد من المركبات الوسطية في أيض حامض الاسكوربيك .
فضلا عن ذلك يمكن للمركب مايواينوسيتول ان يدخل المسار بعد ان يتأكسد الى **D-جلوكيورونات** . وأخيرا ، من المفيد الاطلاع على مسارات الايض الهيدسي للجلوكوز التي وردت في هذا الباب والتحولات الرئيسة لكل منها كما هو موضح في الشكل (4.4) . اذ يبين المخطط ارقام ذرات الكربون التي تشترك في التغيرات الرئيسة التي تطرأ على جزيئة الجلوكوز اضافة الى تحديد المسارات التي يلاحظ وجودها في الاحياء المجهرية .

د. مسارات تخمرية أخرى

يملك العديد من الاحياء المجهرية وخاصة تلك التابعة الى جنس **Propionibacteria** القدرة على انتاج حامض السكسينيك والبروبيونيك من كل من الجلوكوز ، والجليسرول ، واللاكتات ، والبيروفات . وتوضح المادلات التالية توازن الكربون في المسارات التي تقود الى تكوين هذين الحامضين :

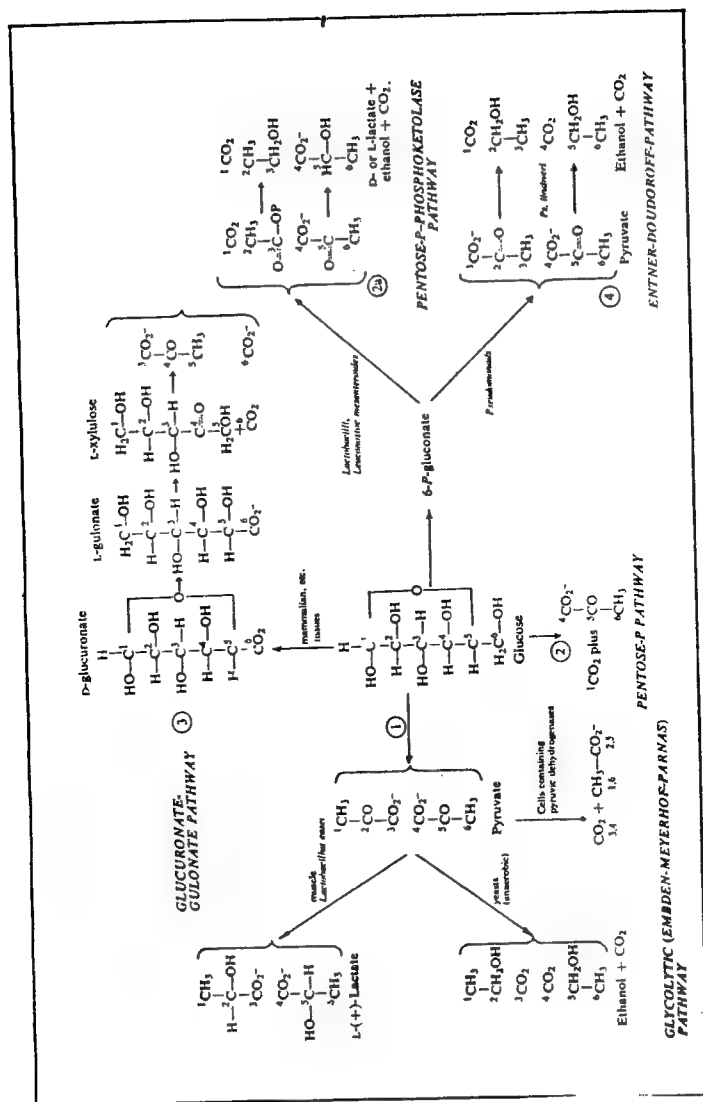


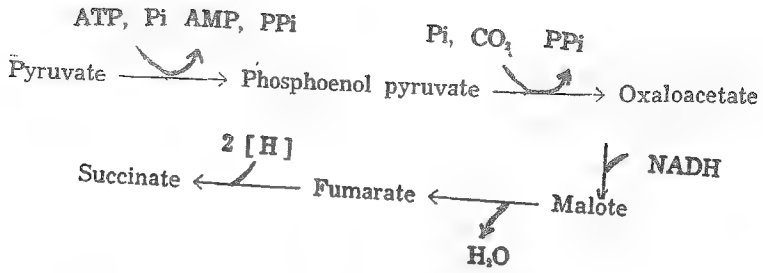
(من مسارات أخرى)



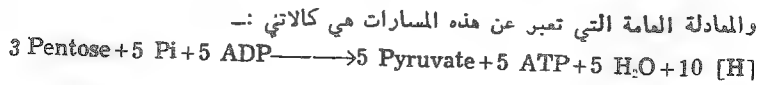
وتكون الخطوات الاساسية في المسارات التخمرية التي تنتج حامض السكسينيك

كالآتي :-





كما يتميز عدد كبير من الاحياء المجهرية بوجود مسارات لتخمير البنتوزات تحفزها انزيمات تكون معظمها من النوع المستحث *inducible* . وتتبع مثل هذه الاحياء المجهرية الى مجموعة *E. Coli* و اجناس *Acetobacter* و *Clostridium* و *Micrococcus* ، حيث تستطيع بعد فترة حث *induction* مناسبة أن تخمر جميع *D* - الدوبنتوزات الاربعة (*D* - رايبوز ، *D* - ارايبينوز *D* - زايلوز ، و *D* - لايسوز) اضافة الى *L* - ارايبينوز و *L* - زايلوز .

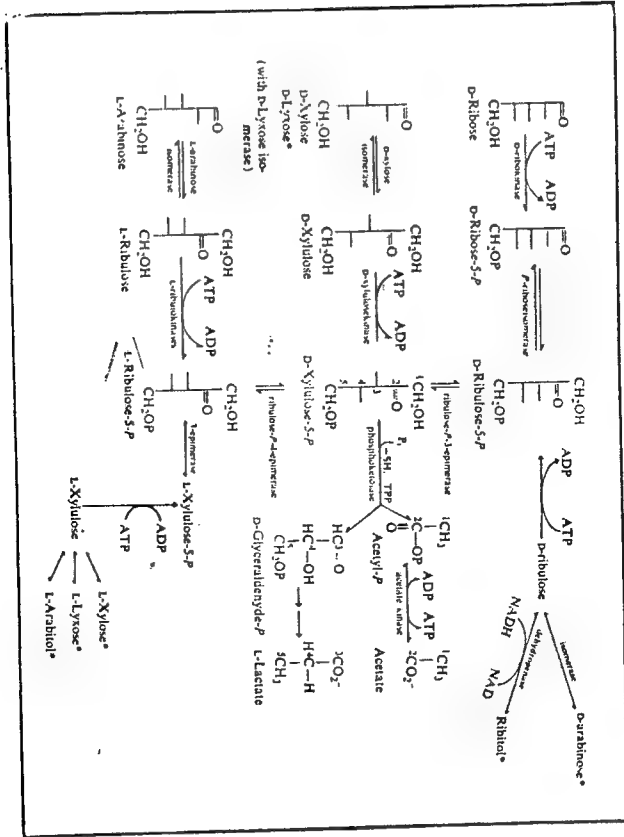


ومن الاحياء المجهرية ذات الاهمية الصناعية التي يلاحظ فيها القدرة على تخمير البنتوزات بعض أنواع البكتريا التابعة للجنس *Lactobacillus* حيث تكون معظم انزيمات المسار من النوع المستحث أيضا . ويمكن التعبير عن المعادلة العامة لهذا المسار كما يلي :-



ويوضح الشكل (5.4) تفاعلات المسار والانزيمات التي تنشط هذه التفاعلات اما المركبات الملونة بنجوم \star فانها تمثل مواد التفاعل التي تستطيع البكتريا التابعة للجنس *Acetobacter* من استغلالها في حين لا تتمكن البكتريا التابعة للجنس *Lactobacillus* من تخميرها .

ويلاحظ في هذا المسار عدم وجود انزيمات الدوليز وترايوز فوسفات الهسومييز ، ويمود ذلك الى عدم امتلاك الاحياء المجهرية انثي يوجد بها المسار لهذه الانزيمات . كما يمكن ملاحظة دور *D* - زايلولوز-5 - فوسفات الذي يعد مركبا مركزيا في المسار ، وكذلك انزيم فوسفوكيتوليز الذي يقوم بدور مماثل لدور الادوليز .



الشكل (5.4) تخمرات البنتوزات في اللاكتوباسيلي Lactobacilli

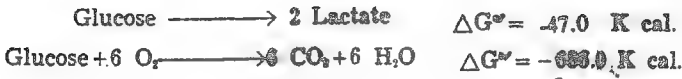
الفصل الخامس

الأكسدة الهوائية للكربوهيدرات Aerobic Oxidation of Carbohydrates

1. مقدمة
2. خطوات دورة حامض الستريك
3. أهمية دورة حامض الستريك في التخليق الحيوي
4. العوامل المؤثرة في فعالية دورة حامض الستريك
5. دورة الجلايوكسيلات

1. مقدمة

لقد عرف هذا المسار بعدة تسميات منها دورة حامض الستريك Citric Acid Cycle ودورة حمض ثلاثي الكربوكسيل Tricarboxylic Acid Cycle ودورة كريس Krebs Cycle . وجميع هذه التسميات ترتبط باسم الكيميائي الألماني المولد البريطاني الجنسية السير هانس كريس Hans Krebs الذي كانت له اسهامات بارزة في اكتشاف المسار . ويعد المسار بمثابة مسار الايض الهدي التأكسدي المشترك لجميع جزيئات « الوقود » العضوية (كربوهيدرات ، وأحماض دهنية ، وأحماض امينية) في الاحياء الهوائية . ويسكن اعتبار المسار الخطوة الاولى في عملية التنفس حيث يتم خلالها انتقال الالكترونات من جزيئات « الوقود » العضوية الى الاوكسجين الجزيئي . وتعد عملية التنفس بعد ذاتها أكثر تمقيدا وكفاءة من التحلل الجلايكولي ، اذ يمتد بأن تطور وظهور هذا المسار الايض لم يحدث الا بعد تطور ونشوء عملية التخليق الضوئي في النباتات الخضراء التي اسهمت في زيادة محتوى الفلاف الجوي من الاوكسجين لدرجة تكفي لعملية التنفس . أما من ناحية الكفاءة فان التحلل الجلايكولي يقوم بتحرير جزء صغير فقط من الطاقة الكيميائية الموجودة في تركيب جزيئة الجلوكوز ، في حين يتحرر مقدار كبير جدا من الطاقة عند اكسدة جزيئة الجلوكوز بصورة تامة الى ماء وثاني أكسيد الكربون كما هو واضح من مقارنة تغير الطاقة الحرة القياسي المرافق لتحويل الجلوكوز الى لكتات مع التغير المرافق لأكسدته الى ماء وثاني أكسيد الكربون :



وعندما يتخسر الجلوكوز لا هوائيا تفادير النواتج التي لا يمكن الاستفادة منها بدرجة أكبر الخلية وهي لا تزال تحتوي على معظم طاقة جزيئة الجلوكوز الاصلية ، سيما أن نواتج التحلل الجلايكولي (كحامض اللاكتيك مثلا) على درجة من التعميد مقارنة بجزيئة الجلوكوز ، فهي لا تزال في نفس الحالة التأكسدية وتتمسك (كمعدل) نفس عدد ذرات الهيدروجين لكل ذرة كربون . وعلى النقيض من ذلك ، فان نواتج التنفس مثل CO_2 تكون أبسط وأصغر بكثير من الجلوكوز كما تكون ذرات الكربون مؤكسدة بصورة تامة . فضلا عن ذلك فان مقدار الطاقة

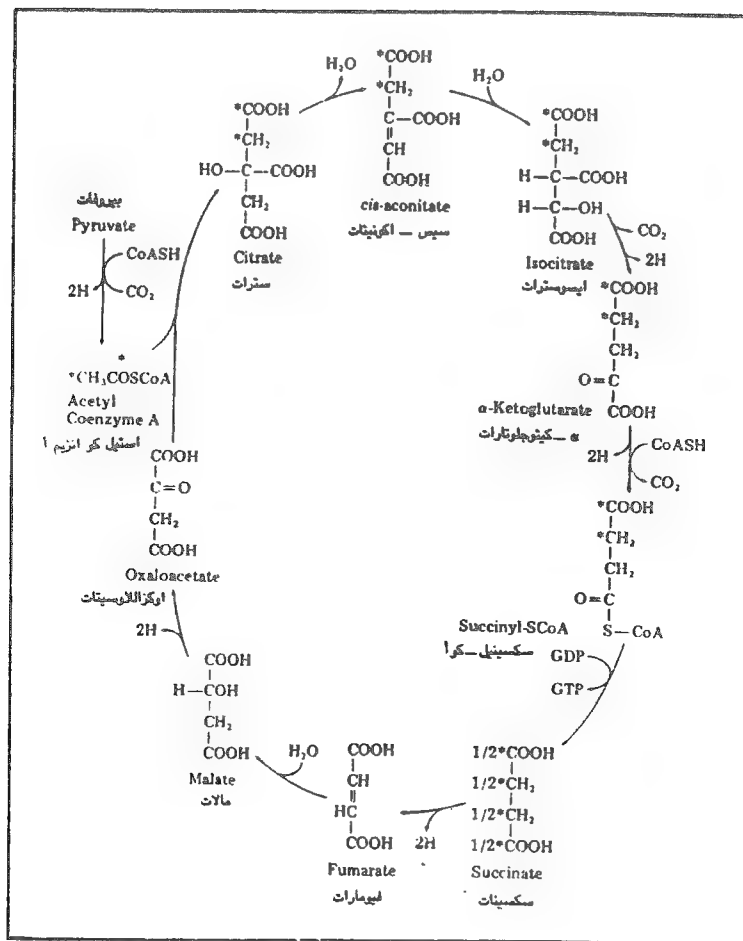
المخاضة عند انتقال زوج من الالكترونات من جزئية « وقود » معينة الى مستقبل acceptor كالاوكسجين (كما في التنفس) تكون اكبر بكثير من الطاقة الناتجة عن انتقال الالكترونات الى البيروقات (كما في التحلل الجلايكولي) .
لذا فان الخلايا التي تنمو لا هوائيا تستهلك جلوكوزا اكثر من الخلايا التي تنمو هوائيا للحصول على نفس المقدار من الطاقة .

2 خطوات دورة حامض الستريك

بالرغم من الدور الاساس لحامض البيروفيك في التفاعلات الايضية ، اذ انه ينتج عن مسار التحلل الجلايكولي ويعد بمثابة حلقة وصل بين هذا المسار ودورة حامض الستريك ، الا أن هذا الحامض ليس من المركبات الوسطية في دورة حامض الستريك كما هو مبين في الشكل (1.5) . ويعد تفاعل تخليق السترات ، الذي يتم خلاله نقل مجموعة استيل الاوكزالواسيتات ، التفاعل الاول في دورة حامض الستريك . ويلاحظ من الدورة ان مجموعة الاستيل تنتج عن تفاعل من نوع ازالة الكربوكسيل التاكسدية Oxidative decarboxylation الذي تزال خلاله ذرة كربون بصورة CO_2 . ويشترك في هذا التفاعل ستة معاونات cofactors ويحفزه انزيم بيروقات ديهيدروجينيز . وفي الحقيقة أن الانزيم الاخير ما هو الا معقد انزيمي يشترك في تركيبه ثلاثة أنواع من الانزيمات موزعة كالآتي :-

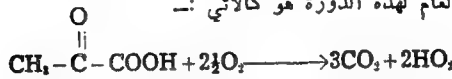
Lipoyl reductase-transacetylase	8 جزيئات
Pyruvate decarboxylase	24 جزيئة
Dihydrolipoyl dehydrogenase	24 جزيئة

ويلاحظ خلال هذه الدورة اكسدة ذرتي كربون الى CO_2 ، أي خلال كل لفنة من لفات الدورة تتأكسد جزيئة (بصورة استيل) . ومن الممكن تمييز أربعة تفاعلات من تفاعلات الاكسدة والاختزال Oxidation-reduction ، اذ يعد التفاعل الاول من هذا النوع وهو تفاعل تحويل أيسوسترات الى α -كيتوجلوتارات . أما التفاعل الثاني فهو تحويل α -كيتوجلوتارات الى سكسينيل-كوا . ويعد تحويل السكسينات الى فيومارات التفاعل الثالث . أما التفاعل الرابع والاخير من هذا النوع فهو اكسدة المالات الى اوكزالواسيتات . ويتم خلال هذه الدورة تكوين مركب فوسفاتي



الشكل (1.5) دورة حامض ثلاثي الكربوكسيل (دورة حامض الستريك)

غني بالطاقة (GTP) ينتج على حساب كسر رابطة ثايوأستر من جزيئة
مكسينيل-كوأ . والتفاعل العام لهذه الدورة هو كالآتي :-



ويلاحظ ادخال حامض البيروفيك الى المادة وذلك تحقيقا للربط بين مسار التحلل
الجلايكولي للجلوكوز ودورة حامض الستريك . كما يظهر بأن خمسا من المركبات
الداخلية في الدورة (وهي سكسينيل-كوأ ، وسكسينات ، وفيوماتات ، و I₂ -مالات ،
واوكزالواستيات) يدخل في تركيبها أربع ذرات كربون فقط . ويستدل من موقع
هذه المركبات في الدورة أن سلسلة التفاعلات التي تعقب اكسدة وإزالة ذرة
الكربون الثانية في الدورة (بهيئة CO₂) ، تستهدف إعادة تكوين الاوكزالواستيات
لكي تستمر الدورة في أداء وظيفتها التأكسدية .

3. أهمية دورة حامض الستريك في التخليق الحيوي

ذكرنا في الفصل الاول من هذا الباب بأن دورة حامض الستريك تعد من
مسارات الايض المزدوج Amphibolic . ويعود ذلك الى دورها في الايض الهدمي
من جهة ولتفرع عدد كبير من مسارات التخليق الحيوي عنها من جهة أخرى .
ويأتي هذا التفرع كنتيجة لكون عدد من المركبات الوسيطة في الدورة مركبات
أولية أو مولدة precursors للعديد من المركبات البيولوجية . إذ تستطيع بعض
الاحياء المجهرية عند اضطرابها للنمو على الكحول الايثيلي أو الخلات كمصدر وحيد
للكربون ان تستعمل مثل هذه المركبات ثنائية الكربون في تخليق الكربوهيدرات
وذلك بعد تحويلها الى استيل-كوأ الذي يعد احد المركبات الاساس في دورة حامض
الستريك . وكما لاحظنا ان هذا المركب ينتج عن ازالة الكربوكسيل التأكسدية
لحامض البيروفيك . والمركب استيل-كوأ هو وحدة التخليق الاساس في عملية
التخليق الحيوي للاحماض الدهنية . وبما ان استيل-كوأ وغيره من المركبات
الوسيطية لدورة حامض الستريك ينتج اما في المايكوبلازما أو في غشاء البلازما
(تبعا لنوع الكائن) فانه من الضروري انتقاله الى السايكوبلازم حيث توجد الانظمة
الانزيمية المختصة بتخليق الاحماض الدهنية . ومن المعروف أن عملية انتقال
استيل-كوأ الى السايكوبلازم تتطلب تحويله أولا الى سترات وذلك بالاندماج مع

الاوكرالواسيتات حيث تخرج بعد ذلك المسترات الى السايكوبلازم وهناك يتم تكسيرها الى استيل-كروا واوكرالواسيتات بواسطة انزيم مسترات لايز .

اضافة الى ذلك فان الاحياء المجهرية تستغل بعض المركبات الوسطية في الدورة في تخليق الاحماض الامينية وذلك لكون هذه المركبات الوسطية تشكل الهيكل الكربوني للاحماض الامينية : جلوتاميك ، وجلوتامين ، واورثين ، وبرولين ، وهيدروكسي برولين . في حين تمد الاوكرالواسيتات الهيكل الكربوني لـ حامض الاسبارتيك والاسباراجين . وعندما تكون الغلية في حاجة كبيرة لمثل هذه المركبات فانها تقوم بتخليقها بواسطة تفاعلات تسمى بالتفاعلات المألثة Anaplerotic Reactions ، حيث تتكفل هذه التفاعلات بمنع حدوث استنزاف في رصيد الغلية من تلك المركبات ، أي أن هذه التفاعلات ليست من ضمن تفاعلات الدورة .

4. العوامل المؤثرة في فعالية دورة حامض الستريك

تتأثر الدورة بعدد من العوامل التي تسيطر عليها وتنظم فعاليتها ، ومن أهمها :

(1) تكون تراكيز الانزيمات المحفزة لتفاعلات الدورة ثابتة نسبيا وذلك بالسيطرة الوراثية على التخليق الحيوي لهذه الانزيمات . ويلاحظ في بكتريا *Bacillus subtilis* و *B. cereus* ان تخليق بعض انزيمات الدورة يتأثر بتراكيز المواد الابضية المختلفة اضافة الى السيطرة الوراثية .

(2) ومن العوامل المؤثرة والمسيطرة على أية سلسلة من التفاعلات هو مدى تيسر مواد التفاعل الاولى . ومن البديهي أن يكون لتراكيز مواد التفاعل في تفاعلات الدورة تأثير منظم في فعاليتها . اذ يلاحظ في بكتريا *E. Coll* ان نصف عمر *Half-life* هذه المواد لا يتجاوز اشرار الثانية باستثناء الاوكرالواسيتات التي يكون نصف عمرها أقل من ذلك . وقد لفتت هذه الملاحظة الانظار الى أهمية هذا المركب في الابيض الوسطي .

(3) تحتاج دورة حامض الستريك الى امداد مستمر من جزيئات NAD^+ لكي تسيير بصورة منتظمة . كما أن هناك حاجة الى بقية المرافقات الانزيمية التي تدخل

في تفاعلات الدورة • لذا فإن اختلال تراكيز المرافقات الانزيمية ينعكس بصورة واضحة على فعالية الدورة • وتقوم الخلية بإعادة أكسدة NADH وتحويله الى NAD^{+} عن طريق سلسلة نقل الالكترونات (الفصل السادس من هذا الباب) ، اذ أن لهذا المرافق الانزيمي دورا مهما في مختلف المسارات الايضية وخصوصا التاكسدية منها •

(4) واخيرا ، فإن السيطرة على الفعالية الانزيمية لبعض انزيمات الدورة تعد من وسائل التنظيم والسيطرة الموجودة في هذه الدورة • فالانزيم فيومارين يشبط بواسطة ATP ، كما يعمل حامض اوكتالواسيتيك كمشبط تنافسي لانزيم سكسينات ديهيدروجينيز الا أن هذا التثبيط سرعان ما يزول عند اضافة ATP • ولهذا الاسلوب من السيطرة على فعالية الانزيمات فائدة كبرى للخلية ، فهو يمنحها القدرة على توجيه العمليات الايضية (البنائية والهدمية) والربط بينها بدرجة كبيرة من المرونة •

5. دورة الجلايوكسيلات Glyoxylate Cycle

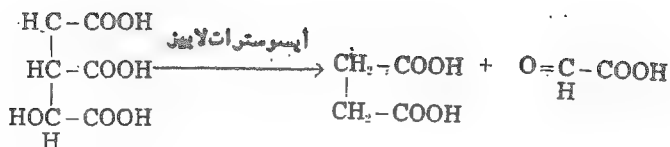
عندما تضطر الاحياء المجهرية مثل *E. Coli* و *Pseudomonas* والطحالب الى استعمال الغلات كمصدر للطاقة والمركبات الوسطية المختلفة الضرورية لتخليق الهياكل الكربونية لمكونات الخلية ، فانها تقوم باحداث تحويل في دورة حامض الستريك • وقد اصطلح على تسمية هذا التحويل بدورة الجلايوكسيلات Glyoxylate cycle • ويكون هذا التحويل بصورة تتجاوز تفاعلات دورة حامض الستريك التالية وايجاد مسار بديل (الشكل 1.5) :

I

Isocitric acid \longrightarrow α -Ketoglutaric acid \longrightarrow Succinyl-CoA

L-Malic acid \longleftarrow Fumaric acid \longleftarrow Succinic acid

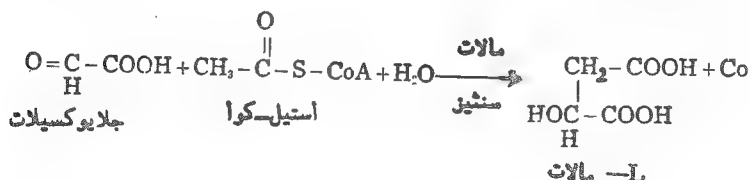
وبلاحظ من ذلك أن التحويل قد تسبب في حذف التفاعلين اللذين ينتج منهما ثاني اوكسيد الكربون • اما التجاوز فقد تم بواسطة تفاعلين يتضمن اولهما تكسير الایسوسترات الى سكسينات وجلايوكسيلات في حين يتم في الثاني تفاعل الجلايوكسيلات مع جزيئة أستيل-كوا لتكوين المالات :



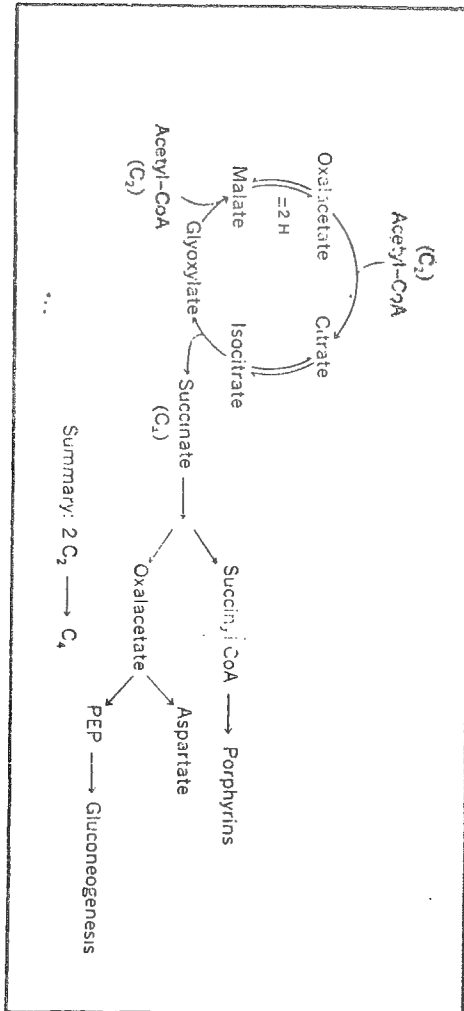
أيسومترات

سكسينات

جلايوكسيلات



والانزيمات الثلاثة الاخرى التي تقوم بتحفيز بقية تفاعلات الدورة فتشمل : ماليك ديهيدروجينيز ، وسترات سنثيز ، واكوتيز . اذ تؤلف الانزيمات الخمسة دورة انجلايوكسيلات التي بواسطتها تحقق الخلية تحويل مولين من الامينات (بصورة استيل-كوا) الى حامض السكسينيك كما هو موضح في الشكلين (2.5) و (3.5) . وكذلك يتضح من الشكل (3.5) الدور البنائي الذي تضطلع به السكسينات ، فهي يمكن ان تتحول الى سكسينيل-كوا وهذا بدوره يدخل في تركيب البورفيرينات ، او يمكن ان تتأكسد الى اوكزالواسيتات بواسطة التفاعلات التي سبق ذكرها في دورة حامض الستريك . وتستغل الخلية الاوكزالواسيتات في تخليق حامض الاسبارتيك الذي تشتق منه عدة مركبات اضية مهمة كالبريميدينات . كذلك يمكن للخلية تحويل الاوكزالواسيتات الى فوسفواينول بيروفات (PEP) الذي يمكن ان يدخل تفاعلات الجلوكونوجينيس Gluconeogenesis التي تستطيع الخلية بواسطتها تخليق الكربوهيدرات (الجلوكوز والنشا) . وفضلا عن ذلك يمكن للاوكزالواسيتات ان تندمج مع استيل-كوا لتكوين المركبات الوسطية في دورة حامض الستريك التي تكون موضع طلب في الايض البنائي .



الشكل (3.5) الدور البنائي لدورة الجلايكوسيلات

الفصل السادس

سلسلة نقل الإلكترونات والفسفرة التأكسدية

Electron Transport Chain and Oxidative Phosphorylation

1. مقدمة
2. مكونات سلسلة نقل الإلكترونات
3. فسفرة مستوى مادة التفاعل والفسفرة التأكسدية
4. حسابات الطاقة

1 . مقدمة Introduction

عند متابعة القبول السابقة يمكن ملاحظة اختزال عدد لا بأس به من المرافقات الانزيمية خلال تفاعلات المسارات الايضية المختلفة . ولعل من أبرز المرافقات الانزيمية التي تختزل هي NAD^+ الذي يتحول الى $NADH$ و FAD الذي يتحول الى $FADH$ وتكون مقادير نيوكليوتيدات الفلافين والنيكوتين أميد في الخلية محدودة ، الامر الذي يستوجب إعادة اكسدتها لضمان استمرار امداد المسارات الايضية بما تحتاجه من المرافقات الانزيمية المتأكسدة التي تعد عوامل مؤكسدة مباشرة في تفاعلات تلك المسارات . ويتم إعادة الاكسدة بواسطة انزيمات متخصصة موجودة في الفشاء الداخلي للميتوكوندريا الذي يجاور المادة النسيجية *matrix* في الخلايا اليوكاريوتية *Eucaryotes* كالفطريات والطحالب والنباتات والحيوانات . أما في الخلايا البروكاريوتية *Procaryotes* كخلايا البكتريا بنوعها الموجبة والسالبة لصيغة الجرام فان هذه الانزيمات توجد في نشاء البلازما وذلك لافتقار خلايا هذه الاحياء الى الميتوكوندريا . ونظرا لكون الاوكسجين الجزيئي هو العامل المؤكسد النهائي في الكائنات الحية الهوائية فان انتقال الالكترونات يسري من المرافق الانزيمي المختزل عبر سلسلة نقل الالكترونات وانتهاء بالاوكسجين ك مستقبل نهائي لتلك الالكترونات . وعلى سبيل المثال يكون التفاعل العام لاهادة اكسدة $NADH$ كالآتي :-



ان مجموعة الانزيمات التي تحفز عملية الاكسدة هذه تؤلف ما نطلق عليه

Electron transport system ، اذ يتم فيها اكسدة واختزال سلسلة متعاقبة من ناقلات الالكترونات بصورة متبادلة . كما يلاحظ من المعادلة السابقة ان اكسدة $NADH$ بواسطة الاوكسجين الجزيئي يصاحبها انخفاض كبير في الطاقة الحرة يكفي لانتاج عدة مولات من ATP لكل مول $NADH$ يعاد اكسدته . وتوجد الانزيمات التي تحفز انتاج ATP عند اكسدة $NADH$ في نفس موضع سلسلة نقل الالكترونات (أي في الفشاء الداخلي للميتوكوندريا أو فشاء البلازما تبعاً لنوع الكائن) ، مما يضمن للخلية استغلال الطاقة المتحررة عن إعادة الاكسدة . ويطلق على عملية

استغلال الطاقة الناتجة من أكسدة **NADH** في إنتاج **ATP** النفسرة التأكسدية **Oxidative Phosphorylation** أو كما تسمى بتعبير أدق بفسفرة السلسلة التنفسية **Respiratory Chain Phosphorylation** . وبصورة عامة يمكن القول بأن الالكترونات التي فقدتها مركبات « الوقود » العضوية خلال مسارات الايض الهديمتنتقل الى المرافقات الانزيمية وهذه تفقدها عند اعادة اكسدتها ليستقبلها الاوكسجين الجزيئي ، وبهذا تحقق الخلية هدفين أساسيين ، اولهما تجديد الصورة المتأكسدة للمرافقات الانزيمية وثانيهما استغلال الطاقة الناتجة في تكوين اواصر فوسفاتية غنية بالطاقة .

2. مكونات سلسلة نقل الالكترونات

Composition of the Electron Transport Chain

يشارك في نقل الالكترونات خمسة أنواع مختلفة من ناقلات الالكترونات ، تضم ثلاثة أنواع من انزيمات الاكسدةالاختزال وبروتينات الحديد اللاهيمي **Nonheme Iron Proteins (NHI)** والكينونات **Quinones** . وتشمل انزيمات الاكسدةالاختزال : الديهيدروجينيزات المرتبطة بالبيريدين ، والديهيدروجينيزات المرتبطة بالفلافين ، والسايتركرومات . وفيما يلي وصف ملخص لاهم مميزات وخصائص كل من هذه الناقلات حسب تسلسلها في سلسلة نقل الالكترونات .

1.2. الديهيدروجينيزات المرتبطة بالبيريدين Pyridine-Linked Dehydrogenases

وسميت هذه المجموعة من الانزيمات بهذه التسمية وذلك لكونها تحتاج اما الى **NAD** او **NADP** اللذين يحتويان في تركيبهما على النيكوتين اميد الذي هو مشتق من البيريدين . ويحفز هذا النوع من الديهيدروجينيزات التفاعل العام الاتي :-

$$\text{Reduced substrate} + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \text{Oxidized substrate} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

$$\text{Reduced substrate} + \text{NADP}^+ \rightleftharpoons \text{Oxidized substrate} + \text{NADPH} + \text{H}^+$$
ويتضح من هذين التفاعلين أن هذا النوع من الانزيمات ينقل مكافئي اختزال بصورة متماكة من مادة التفاعل الى الصورة المتأكسدة من نيوكليوتيد البيريدين . اذ يظهر أحد المكافئين في نيوكليوتيد البيريدين المختزل كذرة هيدروجين في حين يظهر الاخر بصورة الكترون . اما ذرة الهيدروجين الاخرى المنزوعة من مادة

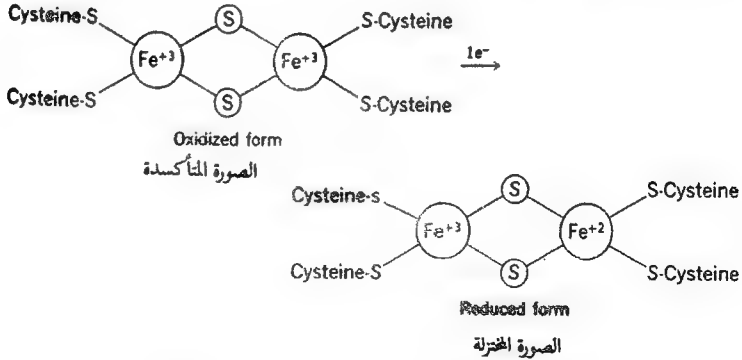
التفاعل فانها تظهر في وسط التفاعل بصورة بروتون حر (H^+) ومن الملاحظ أنه بالرغم من احتواء جميع خلايا الكائنات الحية على NAD و $NADP$ إلا أنه عادة ما تكون نسبة NAD هي الأعلى - فضلا عن ذلك فإن هناك نوعا من التخصص في توزيع هذين المرافقين الانزيميين بين أجزاء الخلية ، ففي حين يكون القسط الاعظم من NAD موجودا في المايโทكوندريا ، فإن الجزء الذائب من السايٲوبلازم يحتوي على مقدار من $NADP$ اكبر نسبيا من NAD - وما تقدم ، يمكن ان نخلص الى ان الديهيدروجينيزات المرتبطة بـ NAD تعمل بالدرجة الاساس في تفاعلات التنفس وتساهم في نقل الالكترونات من مواد التفاعل باتجاه العامل المؤكسد النهائي ، أي الاوكسجين - وبالمقابل فإن الديهيدروجينيزات المرتبطة بـ $NADP$ تعمل بالدرجة الاساس في نقل الالكترونات الناتجة عن الايض الهديمي لمواد التفاعل الى تفاعل الايض البنائي الاختزالية (كتفاعلات تغليق الاحماض الدهنية) - وبالرغم من وجود نوع من التخصص لهذه الديهيدروجينيزات اتجاه NAD أو $NADP$ ، إلا ان هناك بعض الاستثناءات - اذ يمكن لبعضها أن يستخدم كلا المرافقين كما هو الحال مع انزيم جلوتامات ديهيدروجينيز -

2.2. الديهيدروجينيزات المرتبطة بالفلافين Flavin-Linked Dehydrogenases

يشمل هذا النوع من الانزيمات الديهيدروجينيزات التي تحتوي على فلافين أدنين ثنائي النيوكليوتيد FAD أو فلافين احادي النيوكليوتيد (FMN) كمجموعة مرتبطة - ويطلق أيضا على هذه الانزيمات اسم فلافوبروتينات **Flavoproteins** ومن أهم الانزيمات المعروفة ضمن هذا النوع $NADH$ - ديهيدروجينيز الذي يحفز انتقال الالكترونات من $NADH$ الى بروتين من نوع بروتينات الحديد اللاهيمي في السلسلة التنفسية - كذلك فإن ارتباط FAD و FMN بالبروتين يكون محكما مقارنة بالـ NAD و $NADP$ - كما أن بعض هذه الانزيمات تحتوي على أكثر من جزيئة FAD أو FMN - وعادة يعبر عن تفاعل اكسدة مادة التفاعل بانتقال ذرتي هيدروجين منها الى FAD أو FMN لينتج عن ذلك الصيغ المختزلة للفلافين وهي $FADH_2$ أو $FMNH_2$ -

3.2. بروتينات الحديد اللاهيمي Nonheme Iron Proteins (NHI)

- يرتبط هذا النوع من ناقلات الالكترونات بانزيم **NADH** - ديهيدروجينيز .
وقد سميت بهذه التسمية وذلك لكون الحديد الداخل في تركيبها موجودا بصورة
مفراية لمجاميع الهيم . ويتراوح عدد ذرات الحديد في كل جزيئة بروتين بين ذرتين
الى ثمان ذرات . كما انها تحتوي على عدد مكافئ من السستائين التي يرتبط بها
الحديد بالصورة التالية :



ومن الملاحظ أن معاملة هذه البروتينات بالعامض ينتج عنها H_2S مما يدل على
احتوائها على كبريت قلق تجاه العامض . كما أن هذه البروتينات تساهم في
التخليق الضوئي وتثبيت النتروجين ، ومن أشهرها الفريدوكسين **Ferredoxin**

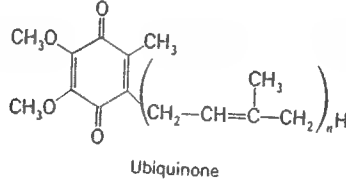
اضافة الى هذا النوع من البروتينات ، فإن بعض البكتريا مثل
Clostridium pasteurianum و **Micrococcus aerogenes** تحتوي

على بروتين يحتوي على الحديد أيضا الا أنه لا يحتوي على الكبريت القلق تجاه
العامض ، ويسمى هذا البروتين روبريدوكسين **Rubredoxin** الذي يكون
بمقدوره التمييز عن الفريدوكسين . وعند تنمية خلايا بكتريا **Clostridium**

pasteurianum على أوساط تفتقر الى الحديد ، يلاحظ ظهور ناقل جديد هو
فلافودوكسين **Flavodoxin** وهذا الناقل عبارة عن فلافوبروتين . وبإمكان هذا
البروتين أن يحل محل الفريدوكسين والروبريدوكسين في جميع فعاليتها الايضية
كتحريد الهيدروجين وتثبيت النتروجين وأكسدة البيروقات . ويحتوي هذا الناقل
على **FMN** كمجموعة مرتبطة عوضا عن الحديد كما أنه يخلو من الكبريت القلق .

4.2 الكينونات Quinons

يمثل هذا النوع من ناقلات الإلكترونات على انتقال الالكترونات بين الفلافوبروتينات والسايتركرومات . وهذه الكينونات هي من نوع بنزوكينونات Benzoquinones ومن أشهرها يوبيكينون Ubiquinone الذي له التركيب العام التالي :

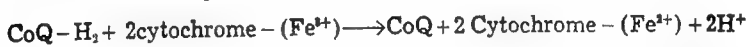


ويختلف طول السلسلة الجانبية باختلاف نوع الغليظة اذ يتراوح عدد وحدات الايسوبرينويد (n) بين ستة الى عشرة ، ويصطلح على تسمية هذا الكينون بالمرافق الانزيمي Q (Coenzyme Q) ويختصر بـ Co Q_n في حالة كون 10=n . في حين يكون عدد وحدات الايسوبرينويد في البكتريا مساويا الى 6 في الغالب ، وفي هذه الحالة يختصر بـ Co Q₆ . الا ان بعض انواع البكتريا مثل *Mycobacteria* تحتوي على ناثوكينونات Naphthoquinones كفيتامين K عوضا عن البنزوكينونات . ويستطيع هذا الناقل أن يستقل الالكترونات في عدة فلافوبروتينات مثل NADH — ديهيدروجينيز ، وسكسينات ديهيدروجينيز ، وجليسول فوسفات ديهيدروجينيز ، وفاتي أسيل-كوا ديهيدروجينيز .

5.2 السايتركرومات Cytochromes

تشمل السايتركرومات مجموعة من البروتينات المحتوية على الحديد التي تقوم بنقل الالكترونات من Co Q الى الاوكسجين الجزيئي في الخلايا الهوائية . وتمتلك هذه البروتينات المرتبطة Conjugated proteins مجاميع مرتبطة بصورة يورفيرينات الحديد Iron porphyrins . ومن المعروف أن السايتركرومات يمكن أن تختزل وتتأكسد بصورة متبادلة بفضل احتوائها على الحديد اليورفيريني . اذ يكون الحديد في السايتركروم المتأكسد بصورة حديديك (Fe³⁺) وهند اختزال السايتركروم فان الحديد يكتسب إلكترون (Fe²⁺) وذلك

لاستقبال المدار الخارجي **valence shell** لذرة العديد من الإلكترون واحد . وبواسطة هذه الخاصية تتمكن السايتركرومات من القيام بوظيفة نقل الإلكترونات . فمعد إعادة اكسدة CoQ-H_2 (المختزل) تختزل السايتركرومات ، وبالتحديد السايتركروم الملاصق لـ CoQ ، إذ أن هناك خمسة سايتركرومات في الأقل هي سايتركروم b و c و c_1 و a و a_3 . وتتطلب الأكسدة تفاعل جزيئي سايتركروم مع جزيئة كينون مختزلة وذلك لأن الأخيرة تقدم الكترونيين لاختزال حديد السايتركروم ، ويمكن توضيح ذلك بالتفاعل التالي :



ويطلق البروتونان الناتجان من التفاعل الى الوسط المحيط بالتفاعل . وقد دأبت بعض المراجع ولعدة سنوات على تسمية الناقل الأخير في السلسلة باسم سايتركروم أوكسيديز في حين أنه يتكون من سايتركروم a . a_3 ويلقب بالأكسيديز الطرفي **Terminal oxidase** . ومن المعروف أن لهذا الناقل القدرة على اختزال الأوكسجين الجزيئي الى ماء في تفاعل يحتاج الى أربعة الكترونات لكل مول من الأوكسجين يتم اختزاله ، والتفاعل بين الأوكسجين وسايتركروم a_3 هو كالآتي :-



ويلاحظ وجود اختلاف في مكونات سلسلة نقل الإلكترونات في بعض أنواع البكتيريا إذ تتكون السلسلة في **E. coli** من فلاووبروتينات وسايتركرومات O_2 ، a_3 ، a_1 ، b_1 أما في بكتريا **Azotobacter vinelandii** فإنها تتكون من فلاووبروتينات وسايتركرومات a_3 ، a_1 ، c_5 ، c_4 ، b_1 .

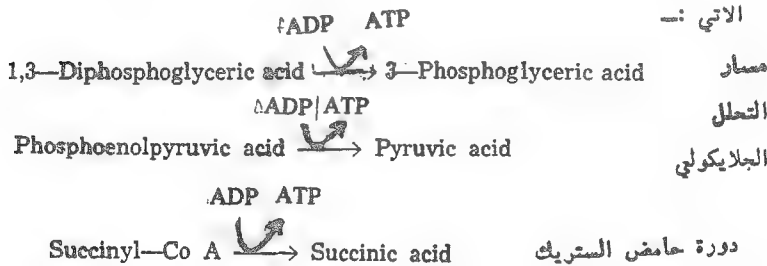
3. فسفرة مستوى مادة التفاعل والفسفرة التأكسدية

Substrate Level Phosphorylation and Oxidative Phosphorylation

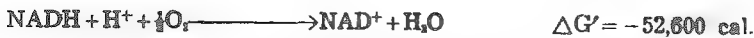
تشمل تفاعلات الفسفرة التفاعلات الأيضية التي يتم فيها إنتاج مركبات الفوسفور ذات الطاقة العالية وذلك باستغلال تغير الطاقة الحرة الكبير (السالب) الذي يصاحب بعض التفاعلات الأيضية وتحويل جزء منه الى أصرة فوسفاتية غنية بالطاقة كما في تحويل ADP الى ATP . وهناك نوعان من تفاعلات الفسفرة

Substrate Level Phosphorylation هما فسفرة مستوى مادة التفاعل

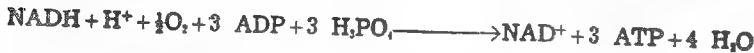
والفسفرة التأكسدية Oxidative Phosphorylation • لقد سبق أن لاحظنا بعض تفاعلات النوع الاول في الفصول السابقة ، ومن الامثلة على هذه التفاعلات



في حين تمتاز الفسفرة التأكسدية بكونها مرتبطة بسلسلة نقل الالكترونات اي أن مصدر الطاقة للفسفرة هو تفاعلات اعادة اكسدة المرافقات الانزيمية المختزلة ، اذ أن تغير الطاقة الحرة الذي يصاحب اكسدة مول واحد من NADH يكون كبيراً جداً كما في التفاعل التالي :

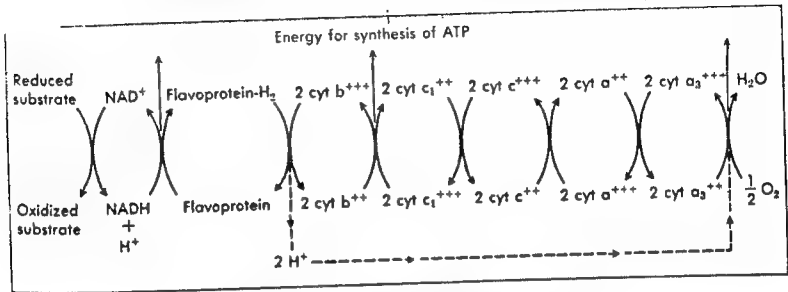


فاذا ما تذكرنا بأن تخليق كل مول من ATP يحتاج الى ما يقارب 7300 كالوري (سعة) ، يصبح من السهل التكهّن بإمكانية انتاج أكثر من مول واحد من ATP باستغلال تغير الطاقة الحرة الكبير ذي القيمة السالبة والمصاحب لأكسدة مول واحد من NADH • وتتجلى هذه الحقيقة في التفاعل العام لأكسدة NADH الذي يشمل تفاعلات الفسفرة المصاحبة للأكسدة :



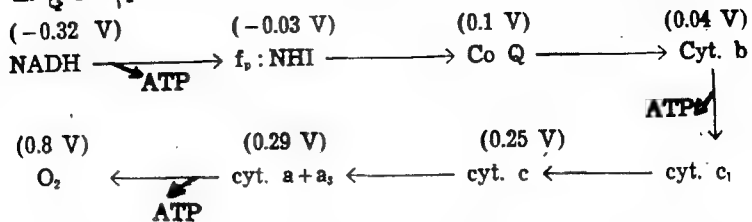
يلاحظ من هذا التفاعل ان كل ذرة اوكسجين يتم استهلاكها يقابلها ارتباط ثلاث ذرات فوسفور بروابط أستيرية ، ولهذه النسبة أهمية عظيمة في معرفة كفاءة عملية التنفس الخلوي اذ تكون النسبة في الحالات الطبيعية كما هي موضحة في التفاعل السابق 3 • اي أن نسبة O : P هي 3 • وتعتبر هذه النسبة من نسبة عدد ذرات الفوسفور المؤسّرة الى عدد ذرات الاوكسجين المستهلكة • أما انتاج هذا

المقدار من ATP لأنه لا يتم دفعة واحدة وإنما على مراحل وعند خطوات معينة من خطوات سلسلة نقل الإلكترونات كما هو مبين في الشكل (1.6) .



الشكل (1.6) سلسلة نقل الإلكترونات

وكذلك يوضح الشكل (1.6) خطوات السلسلة التي تتم عندما تفاعلات الاسترة أي تكوين ATP ، إذ تنتج الجزيئة الأولى بعد إعادة أكسدة NADH ، والثانية بعد إعادة أكسدة سايتوكروم b ، والثالثة بعد إعادة أكسدة سايتوكروم c . ولا يعد هذا التوزيع لخطوات الفسفرة عشوائيا وإنما يعتمد على قيم جهد الاختزال (E₀) لأعضاء سلسلة نقل الإلكترونات ، إذ تكون هذه القيم كالآتي :-



ويلاحظ من هذا المخطط أن الفسفرة تكون مصاحبة للخطوات المتميزة بفرق كبير في جهد الاختزال (E₀) ، إذ يضمن فرق الجهد الكبير تغيرا كبيرا في الطاقة الحرة ΔG⁰ يمكنه إنتاج ATP وذلك نتيجة للعلاقة الطردية بين ΔG⁰ وفرق جهد الاختزال (ΔE₀) :

$$\Delta G' = - n F \Delta E_0$$

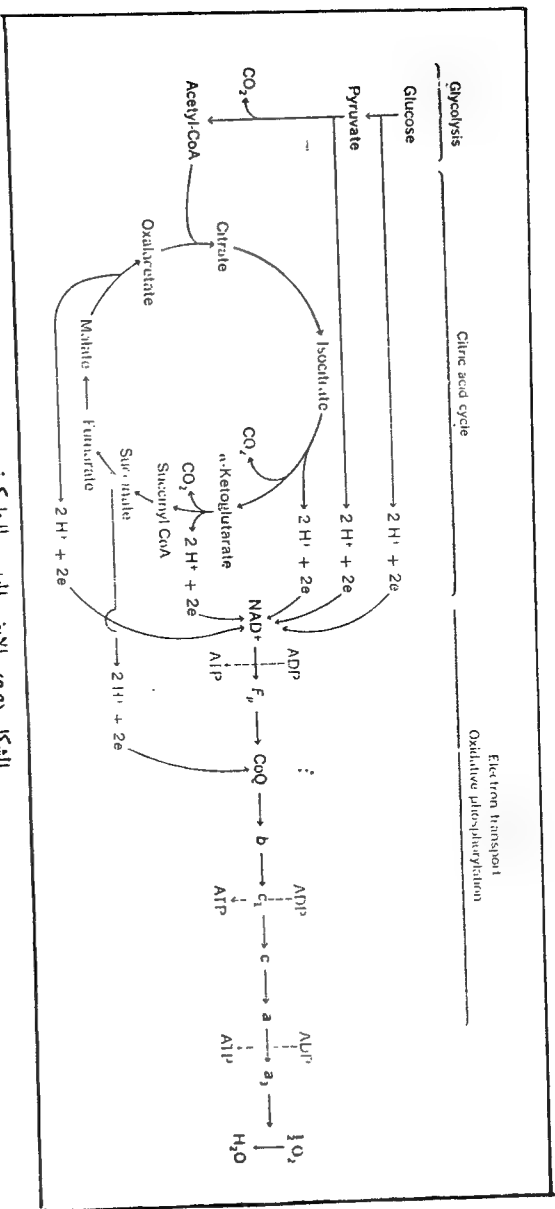
ويعد هذا الترافق أو الازدواج بين نقل الإلكترونات والفسفرة ضروريا جدا لحياة الكائن الحي ، إذ أن الهدف الأساس للخلية من هذا النظام هو إنتاج الطاقة الضرورية لفعالياتها الحيوية المختلفة . ولبعض مركبات السيانييد والمضادات

الحيوية تأثير قاتل للخلية وذلك من خلال فصل هذا الازدواج بين نقل الالكترونات والفسفرة ، وعليه يطلق على مثل هذه المركبات عوامل فك الازدواج **Uncoupling Agents** . اذ ان وجود مثل هذه المركبات في الوسط المحيط بالخلية يجعل عملية نقل الالكترونات تسير بسرعة قد تكون اكبر من المعتاد ولكن بدون حدوث فسفرة ADP الى ATP ، مما يدفع الى الاعتقاد بأن الفسفرة تبدو كخطوة محددة للسرعة . ومن الامثلة على هذه المركبات 4,2 - ثنائي نيتروفينول ، وجراميسيدين ، وانتيمايسين ، وفالينومايسين . بينما تثبط بعض المضادات الحيوية مثل اوليجومايسين وروتامايسين كلا من نقل الالكترونات والفسفرة .

4. حسابات الطاقة

لو تتبعنا تفاعلات الايض الهدمي التي تتعرض لها جزيئة جلوكوز بدءا بتفاعلات مسار التحلل الجلايكولي ثم دورة حامض الستريك وأخيرا سلسلة نقل الالكترونات لاستطعنا التعرف على مقدار الطاقة التي تحتجزها الخلية بصورة ATP والتي تنتج عند خطوات معينة في هذه المسارات . ويقدم الشكل (2.6) ملخصا اجماليا للتفاعلات المختلفة لهذه المسارات ، اذ يوضح الشكل المراحل أو الخطوات التي يتم خلالها اختزال المرافقات الانزيمية خلال مسار التحلل الجلايكولي ودورة حامض الستريك ثم اعادة اكسدة هذه المرافقات المختزلة خلال سلسلة نقل الالكترونات . وكذلك يجمع الشكل (2.6) بين فسفرة مستوى مادة التفاعل والفسفرة التاكسدية المصاحبة لأكسدة جزيئة الجلوكوز اكسدة تامة الى ماء وثنائي اوكسيد الكربون .

وبالاستعانة بالمعلومات الواردة في الفصول السابقة والشكل (2.6) يمكن حساب العدد الكلي لجزيئات ATP الناتجة كالآتي :-



الشكل (2.6) الايض الهوائي للجلوكوز

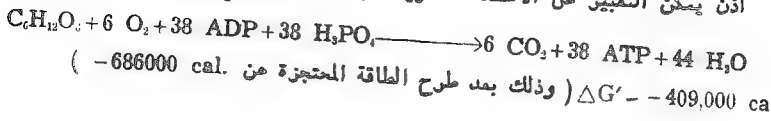
2 substrate level phosphorylations — 2 ATP = 2 ATP	2 التحلل
$2 \times [2H^+ + 2e^-]$ NAD oxidative phosphorylation = 6 ATP	2 الهلايكولي
$2 \times [2H^+ + 2e^-]$ NAD oxidative phosphorylation = 6 ATP	2 اسيلكولي-بيرولات
$3 \times 2[2H^+ + 2e^-]$ NAD oxidative phosphorylation = 18 ATP	3 دورة
$2 \times 1[2H^+ + 2e^-]$ FAD oxidative phosphorylation = 4 ATP	2 حامض
2 substrate level phosphorylations = 2 ATP	2 السطريك

38 ATP

ان اكسدة مول واحد من الجلوكوز اكسدة تامة بواسطة الاوكسجين الى ماء وثاني
اوكسيد الكربون يحرر طاقة كبيرة كما هو مبين في المعادلة الاتية :-



ا) تغير الطاقة الحرة المصاحب لأكسدة الجلوكوز في الخلية الحية فانه يقل عن
هذا المقدار وذلك لان جزءا من الطاقة المتحررة تحتجز بصورة ATP ، ويمكن
حساب مقدار هذه الطاقة المتحجزة باستعمال قيمة 7300 كالوري كتعبير عن
مقدار الطاقة اللازمة لتخليق ATP واحدة وذلك كما في المعادلة التالية :-
(الطاقة المتحجزة بصورة ATP) (-7300 cal.) = -277000 cal. (38 ATP)
اذن يمكن التعبير عن الاكسدة الخلوية للجلوكوز كما يلي :



اما كفاءة حفظ الطاقة من قبل الخلية فانها :

$$\frac{277000}{686000} \times 100 = 40 \%$$

وهذه القيمة تعني بأن الخلية قد استطاعت استخلاص 40% من الطاقة
المتاحة في جزيئة الجلوكوز وحفظها بصورة مركبات ذات طاقة عالية تستغلها
كلما دعت الحاجة الى استعمالها كتفاعلات الابيض البنائي .

مراجع الباب الثالث

- Allen, L.A. (1964) — The biochemistry of industrial micro-organisms. Chem. Ind. May 23, p. 877-880.
- Aurand, L.W., and Woods, A.E. (1973) — Food chemistry. 1st ed. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Conn. E.E., and Stumpf, P.K. (1976) — Outlines of biochemistry. 4th ed. John Wiley & Sons. Inc., New York.
- Goodwin, T.W. (1968) — The metabolic roles of citrate. Academic Press, New York.
- Harold, F.M. (1972) — Conversion and transformation of energy by bacterial membranes. Bacteriol. Rev., 36, 172.
- Kalckar, H.M. (1969) — Biological phosphorylations: development of concepts. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J.
- Kelly, D.P. (1971) — Autotrophy: concepts of lithotrophic bacteria and their organic metabolism. Ann. Rev. Microbiol., 25, 177-210.
- Lehninger, A.L. (1964) — The mitochondrion: molecular basis of structure and function. Benjamin, Inc. New York.
- Lehninger, A.L. (1965) — Bioenergetics. Benjamin, Inc., New York.
- Lehninger, A.L. (1975) — Biochemistry. Worth Publishers Inc., New York.
- Lowenstein, J.M. (1967) — The tricarboxylic acid cycle. In "Metabolic pathways". (D.M. Greenberg, ed) 3rd ed. Vol. 1. Academic New York.
- Mahler, H.R., and Cordes, E.H. (1971) — Biological chemistry. 2nd ed. Haper and Row, New York.
- Moat, A.G. (1979) — Microbial physiology. John Wiley & Sons Inc., New York.
- Newsholme, E.A., and Start, C. (1973) — Regulation in metabolism. John Wiley & Sons Inc., New York.

- Payn, J.W. (1980) -- Microorganisms and nitrogen sources. John Wiley & Sons Inc., New York.
- Rainbow, C., and Rose, A.H. (1963) -- Biochemistry of industrial microorganisms. Academic Press, New York.
- odes, A., and Fletcher, D.L. (1966) -- Principles of industrial microbiology, 1st ed. Pergamon Press, Oxford.
- Roodyn, D.B. (1967) -- Enzyme cytology. Academic Press, New York.
- Rose, A.H. (1976) -- Chemical microbiology: an introduction to microbial physiology. 3rd ed. Butterworths, London.
- Stanier, R.Y., Adelberg, E.A., and Ingraham, J. (1976) -- The microbial world. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.

f
R
y

PART 4

الباب الرابع

اتجاهات في الميكروبيولوجي الصناعي

TRENDS IN INDUSTRIAL

MICROBIOLOGY

الفصل الاول

المنتجات الأولية لايض الاحياء المجهرية

Primary Products of Microbial Metabolism

1. مقدمة
2. أهمية المواد الايضية الأولية
3. الاحماض الامينية
4. نيوكليوتيدات النكهة
5. الفيتامينات
6. الاحماض العضوية
7. التحولات الحيوية
8. المذيبات
9. بروتين الغلية الواحدة

يسهم الانتاج الميكروبي للمواد الايضية بدرجة كبيرة في توفير متطلبات الحياة . فالاحياء المجهرية النامية على مصادر كربونية رخيصة يمكنها بواسطة التخمر انتاج منتجات نافعة وذات قيمة كالاحماس الامينية والنيوكليوتيدات والاحماض العضوية والفيتامينات التي قد تضاف الى الاغذية لتمييز نكهتها او لزيادة قيمتها الغذائية . ان اسهام الاحياء المجهرية يفضي بشكل جيد الى ما ورام صناعة الغذاء مع الاهتمام المتجدد بالتخميرات المنتجة للمذيبات .

وللأحياء المجهرية المقدرة على تجهيز العديد من المنتجات المشتقة من البترول فضلا عن الايثانول الضروري للوقود السائل . وبالتأكيد سوف تزداد أهمية دور المواد الايضية الأولية وكذلك الأحياء المجهرية المنتجة لها في المستقبل .

Importance of Primary Metabolites

2- أهمية المواد الايضية الأولية

اعتمد التطور الكبير في الصناعة التخمرية على ثلاث سمات مهمة للأحياء المجهرية هي :-

1. النسبة العالية للمساحة السطحية الى الحجم التي سهلت الامتصاص السريع للمواد الغذائية اللازمة لتشجيع المعدلات العالية للايض والتخليق المبيوي .
2. الانواع الهائلة من التفاعلات التي تستطيع الأحياء المجهرية أجزاها .
3. السهولة في التكيف لطروف البيئة والتغيرات الحاصلة فيها التي تميز نقل المزرعة من الطبيعة الى الدورق المختبري حيث تكون قادرة على النمو على مصادر كربونية وتروجينية رخيصة لكي تنتج مركبات ثمينة .

ويمكن ادراك قدرة المزرعة الميكروبية في عالم التخليق التنافسي بحقيقة انه حتى الجزيئات البسيطة مثل حامض L- جلوتاميك و L- لايسين لا تزال تنتج بواسطة التخمر وليس بواسطة التخليق الكيميائي . وبالرغم من أن بعض مجالات التخمر الصناعي قد فقدت لصالح التخليق الكيميائي (مثل الكحول الصناعي والمذيبات) الا انه من الواضح أن الغالبية لا زالت لصالح التخليق الميكروبي . وبالرغم من كفاءة التخليق الكيميائي للرايوفلافين ، الا أن انتاج هذا المركب لا يزال يجري بواسطة التخمر وأيضا بواسطة التخليق . وعلى رجة الشريب ،

لا تزال العمليات الكيميائية الكاملة لانتاج فيتامين C والستيرويدات تستخدم خطوات التحويل الحيوي الميكروبي ، كما تمد أغلب المنتجات الطبيعية معقدة جدا وتحتوي على العديد من مراكز التماثل التي قد يكون من المستحيل إنتاجها تجاريا بواسطة التخليق الكيميائي . ان مفتاح حفظ حياة الصناعة التخمرية هو مقدرتنا على التحويل الوراثي للمزارع الميكروبية الى حالات من الانتاجية العالية .

وقد استخدمت لسنوات عديدة المنتجات الميكروبية ذات الوزن الجزيئي المنخفض لتعزير جودة وتيسر الغذاء . ويدرج الجدول (1.1) قائمة بالمنتجات التي استخدمت ولا تزال تستخدم في صناعات الغذاء والتغذية .

ان سبب هذا الاستخدام المؤثر للاحياء المجهرية هو بسيط : اذ تمتلك الاحياء المجهرية قدرة مذهلة في استعمال مصادر رخيصة من الكربون والنيتروجين لتفرط في انتاج مواد ايضية نافعة ذات الوزن الجزيئي المنخفض والمرتفع . ان الافراط في الانتاج over production هو تجمع المادة الايضية داخل أو خارج الخلية الى المستوى (قائم على أساس الحجم الكلي لبيئة التخمر) الذي يزيد بقدر مرة واحدة في الاقل على مقدار التركيز الاعتيادي الذي تتطلبه الاحياء المجهرية الصعبة الارضام fastidious من أجل نموها الامثل .

الجدول (1.1)

بعض المنتجات التخمرية المستخدمة في صناعة الغذاء والتغذية

الأمثلة	الصف
الايثانول	الكحوليات
حامض الجلوتاميك، لاسي، ثريونين	الاحماض الامينية
حامض آيسواسكوريك، حامض 5-جوانيليك	مضادات الاكسدة
حامض 5-إنيوسينيك	النيوكليوتيدات
حامض الخليك، حامض البروبيونيك، حامض	الاحماض العضوية
السكسينيك حامض الفيوماريك، حامض اللاكتيك،	
حامض المالك، حامض التارتاريك، حامض الستريك،	
حامض الجلوكونيك	
الجليسرول، المانيتول	عديدات الأول (Polyols)
بروتين وحيد الخلية	البروتين
الفركتوز، السوربوز	السكريات
الايوفلافين (B ₂)، سيانوكوبالامين (B ₁₂)	الفيتامينات

وتؤكد المعلومات الواردة في الجدول (2.1) القدرات الكبيرة لبعض الاحياء

المجهرية المتميزة بفرط الانتاج *

الجدول (2.1)

الفرط في انتاج بعض المواد الايضية الاولى الميكروبية

المنتج	مطلبات النمو (1) (ملغم/ لتر)	الانتاج (2) (ملغم/ لتر)	نسبة المنتج / المطلوب
لايسين	250	50000	$2^{10} \times 2.0$
حامض الجلوتاميك	300	100000	$2^{10} \times 2.3$
حامض إينوسينيك	25	13000	$2^{10} \times 5.2$
رايبوفلافين	0.5	10000	$4^{10} \times 2.0$
سيانوكوبالامين	0.001	50	$4^{10} \times 5.0$

(1) عموما تستخدم هذه التراكيز لاعطاء النمو الامثل للعديد من الاحياء المجهرية ومن المحتمل ان تكون مفرطة نوعا ما .

(2) تمثل هذه التراكيز على وجه التقريب المقادير القصوى المذكورة في المراجع

وتقع العديد من الجزيئات الموضحة في الجدول السابق في فئة المواد الايضية الاولى ، وهي الجزيئات الصغيرة لجميع الخلايا الحية التي تعد نواتج وسطيّة او نهائية لمسارات الايض الوسطي ، او هي تلك المستخدمة كقوالب بنائية للجزيئات الكبيرة ، او تتحول الى مرافقات انزيمية Coenzymes .

ومن وجهة النظر الصناعية ، تعتمد الاحماض الامينية والنيوكليدييدات والفيتامينات والمذيبات العضوية اكثر اهمية . ومن وجهة نظر الاسياء المجهرية ، فان الانفراط في انتاج المواد الايضية الاولى يعد عملية مؤدية الى التلف والضياع وانها تحدث دائما بعد فترة فقط من كسر موجهات الانتظام التي نشأت في الانظمة الحية لمنع الانفراط في التخليق .

ان المزارع المتغيرة التنظيم تكون اقل ملائمة للتنافس في الطبيعة من اجل البقاء ازاء الاحياء الاخرى المالكة لميكانيكيات تنظيم اعتيادية .

ومن الطبيعي أن يعني المتخصصون بالميكروبيولوجي الصناعي بالانفراط في التخليق ، وبالتالي عندما يجدون مزرعة متغيرة التنظيم قليلا في الطبيعة او في

مجموعة المزارع فانهم يبذلون جهودهم في تغيير تنظيم المزرعة الى مدى أبعد .
وبواسطة التحويلات الوراثية والبيئية من الممكن تغيير ميكانيكات التنظيم
وبالتالي اجبار الاحياء المجهرية نحو الافراط في الانتاج وافراز المواد الايضية
الاولية ذات الهمية التجارية .

3. الأحماض الامينية Amino Acids

ان تجنب تنظيم التغذية الاسترجاعية يكون بتحديد قدرة الخلية على تكديس
المثبطات ضمن الخلية والنواتج النهائية الكبيرة ، وهذا يتم عادة بانتاج مثبط
غذائي auxotrophic وتبويمه جزئيا بالنسبة لهذا الاحتياج .
ويحصل بمثل هذه الطريقة على مستويات عالية من الاحماض الامينية
والنيوكليوتيدات ، ويقوم قسم L- لايسين التجاري على هذا الاساس . ويوضح
الجدول (3.1) انتاج المواد الايضية الاولى بطريقتين .

والوسيلة الثانية لتجنب تنظيم التغذية الاسترجاعية هي بانتاج مثبطات
مقاومة لمضادات سامة للمادة الايضية المرغوبة وكما هو موضح في الجدول (3.1) .

الجدول (3.1)

انتاج المواد الايضية الاولى

أ) بواسطة التحويل الجزئي لمثبطات غذائية :

الناتج	الاحتياج الغذائي
ساقط راجلوتا ميك L- لايسين L- ثريونين	الجليسرول أو البيوتين هو موصوفين لايسين ، ميثيونين ، أيسوليوسين

ب) بواسطة انتخاب مثبطات مقاومة لمضادات المادة الايضية :

الناتج	المقاومة لمضاد المادة الايضية
L- ثريونين L- ميثيونين L- تريبتوفان	حامض حمض - أمينو - β - هيدروكسي فاليريك أيثيونين S- فلوروتريبتوفان

ويبين الجدول (4.1) كيف تؤدي تطفرات المقاومة المتعاقبة والمفروضة على سلالة تحتاج جزئياً الى مغذيات معينة «brady-troph» الى زيادة انتاج L- تيروسين *

الجدول (4.1)
تتابع الطفرات نحو الافراط في انتاج التيروسين

L- تيروسين (غم / لتر)	تتابع الطفرات
1.0 >	<i>Corynebacterium glutamicum</i> (نوع بري)
3.0	↓ تحتاج جزئياً الى فنيـل الـانين
5.7	↓ مقاومة تجاه 3- أمينو -L- تيروسين
7.5	↓ مقاومة تجاه p- أمينو -DL- فنيـل الـانين
12.2	↓ مقاومة تجاه p- فلورو -DL- فنيـل الـانين
13.5	↓ مقاومة تجاه L- تيروسين هيدروكسامات

ويعد تفير النفاذية مهما جدا في انتاج حامض L- جلوتاميك ، الحامض الاميني المهم تجاريا . وينتج سنويا حوالي 250000 طن من ممزج النكهة الفعال جلوتامات احادي الصوديوم وذلك بواسطة التخمر . وقد اكتشف حامض الجلوتاميك بواسطة Kinoshita و Shimono و Udaka في بحث نشر عام 1957 . ورغم ان اجناسا وأنواعا عديدة تقع في مجموعة المفرطات في انتاج الجلوتامات مثل أنواع من *Micrococcus* ، *Corynebacterium* ، *Brevibacterium* و *Microbacterium* الا انها جميعا متماثلة من الناحية التصنيفية وينبغي ان تضم تحت جنس واحد . ولجميع المفرطات في انتاج الجلوتامات عائق في دورة حامض ثلاثي الكربوكسيل بمعنى افتقارها الى أنزيم كيتوجلوتارات ديهيدروجينيز ، وعليه يتم تحويل دفع الكربون نحو حامض الجلوتاميك . وعادة لا يحدث فرط انتاج حامض الجلوتاميك بسبب تنظيم التغذية الاسترجاعية . ومع ذلك نتيجة لانخفاض تأثير المائق تجاه الممر الخارجي ، فان الجلوتامات تترك الخلية مسببة في ان تخليقها يجري بلا حدود . ان النفاذية يتأثر عمدا بواسطة معالجات مختلفة من ضمنها حرمان البيوتين (جميع مفرزات الجلوتامات تحتاج الى البيوتين) ، وحرمان الجليسرول من الكائنات التي تحتاج اليه او اضافة البنسلين او مشتقات الاحماض الدهنية الى الخلايا النامية في طورها اللوغارثمي . ومن الناحية الظاهرية فان جميع هذه المعالجات تسبب نقص الفوسفوليبيد من الفشاء الساييتوبلازمي الذي يشجع خروج الجلوتامات من الخلية .

ان الكمية الضخمة من الحبوب المستهلكة في العالم تفتقر الى الحامض الاميني الاساسي لايسين . ويحول التدعيم باللايسين مثل هذه الحبوب الى غذاء أو علف متوازن . ويعود الفضل في ذلك الى اكتشاف الباحثين Kinoshita و Nakayama و Kitada عام 1958 حيث ان الطفرات المحتاجة الى هوموسيرين المائدة للكائن الحي الجهري المفرط في انتاج الجلوماتات *

Corynebacterium glutamicum ، تنتج مقادير من اللايسين عندما تنمى تحت ظروف مناسبة حيث يتميز تخمر فعال يمتاز بأنتاجه لأكثر من 50 هم لايسين / لتر وبمحصول وزنية قدرها 25% من الجلوكوز المستهلك .

وقد اثبتت المفرطات في انتاج الجلوتامات ، عندما يتم احداث طفرة فيها من أجل فقد انزيم هوموسيرين ديهيدروجينيز ، انها أفضل المفرطات في انتاج اللايسين . ومع ذلك ينبغي توفير تراكيز من البيوتين مثلى لعملية النمو في المزرعة . واذا توفرت تراكيز دون المثلى فان حامض الجلوتاميك هو الذي يفوز وليس اللايسين . وبصورة ماثلة اذ اضيف البنسلين الى الكائن *C. glutamicum* الخالي من الهوموسيرين والنامي في بيئة تحتوي على تركيز مثالي من البيوتين سينتج حامض الجلوتاميك . والسبب هو أن تمثيل النتروجين من قبل المفرطات في انتاج الجلوتامات يحدث فقط خلال عملية اضافة الامين المختزلة لمركب γ - كيتوجلوتارات ليتحول الى جلوتامات . ويحفز هذا التفاعل بواسطة NADP المرتبط بجلوتامات ديهيدروجينيز . وهكذا فان نتروجين جميع الاحماض الامينية الطبيعية يشتق من الجلوتامات الداخلية بواسطة عملية نقل الامين *transamination* وعندما تنفي ميكانيكية النفاذية بواسطة تحديد البيوتين او اضافة البنسلين ، فان الجلوتامات تفقد من الخلية ولا تصبح متيسرة كمانعة نتروجين ضمن الخلية من أجل تخليق اللايسين .

ان الطريق نحو الافراط في انتاج اللايسين هو بتجنب تثبيط التغذية الاسترجاعية *feedback inhibition* بواسطة :-

- (1) تحديد مثبط التغذية الاسترجاعية لانزيم اسبارتوكينيز .
 - (ب) امتلاك انزيم ديهيدرو داي بيكولينات سينثيز غير الحساس للتثبيط الاسترجاعية .
- وينتمي اللايسين الى عائلة حامض الاسبارتيك لكونه ينتج من الاسبارتات بطريق متفرع مع الشريونين والميثيونين والايسوليوسين .

4 . نيوكليوتيدات النكهة Flavor Nucleotides

- يعزى الاهتمام بتخميرات النيوكليوتيد الى قدرة بيورينات رايبونوكليوسيد-5- احادي الفوسفات الثلاثة وهي :- حامض الجوانيليك (جوانوسين - 5- احادي الفوسفات (GMP) وحامض الاينوسينيك (اينوسين - 5- احادي الفوسفات (IMP) وحامض الزانثيليك (زانثوسين - 5- احادي الفوسفات ، XMP) ، في تمهيز

النكهة (مرتبة تنازليا تبعا لفعاليتها) . وبالرغم من كون ديوكسي رايبونيوكليوثيدات المناظرة فمالة ايضا الا ان المركبات التالية لا تمد فمالة وهي : ادينوسين -5- أحادي الفوسفات (AMP) والايسومرات 2 و 3 والنيوكليوثيسيدات والقواعد الحرة ، ومشتقات البيريميدين .

وكان الكثير من الابحاث الاولية عن انتاج النيوكليوثيدات يدور حول افراز مشتقات النيوكليوثيد الناشئة عن تكسر حامض الرايبونيوكلليك اثناء حالات الاجهاد . وفيما بعد تحول الامر نحو التخميرات المباشرة للسكويات لانتاج نيوكليوثيدات البورين والنيوكليوثيدات بواسطة المتطفرات البكتيرية mutants

ان الطريق نحو التكديس الفعال للبورين هو تحديد AMP | GMP ضمن الخلية ويكون هذا التحديد اكثر تأثيرا بواسطة تقييد تفذية الكائنات المتطلبة للبورين . وهكذا فان الكائنات الطفرية التي تحتاج الى الادنين تكون هايپوزانتين واينوسين الناتجين من تكسر IMP المتجمع داخل الخلية .

وحتى عام 1964 لم تعرف طريقة ناجحة لتخمير مباشر تؤدي الى انتاج النيوكليوثيدات . وقد جاء التقدم المهم مع اكتشاف المفرطات في انتاج الجلوتامات التي يمكنها افراز نيوكليوثيدات سليمة . وعند تنمية البكتريا *C. glutamicum* التي تحتاج الى الادنين في بيئة تحتوي على تركيز نمو مثالي من البيوتين فانه ينتج IMP . كما يجب ان GMP منتج بشكل افضل بواسطة التخليق المسعود او الانقاضي

Brevibacterium

Salvage Synthesis باستخدام البكتريا

ammoniagenes

وتفاهل التخليق الانقاضي هو كالآتي : -



(فوسفورايبوسيل)

(بيروفوسفات)

وقد عرف هذا التخليق لسنوات بأنه يجري داخل خلايا الاحياء المجهرية المجهزة بالبيورينات المنجزة . واقيم الدليل على ذلك بواسطة مستخلصات خالية من الخلايا وبواسطة انزيمات منقاة ولكن معروفة بعدم عملها خارج الخلايا ، مع خلايا سليمة لم تعط لها PRPP . وقد وجد الباحثون فيما بعد ، عندما تسم استيفسام بعض

التخميرية ، انه يمكن اضافة عدة قواعد بيورينية الى مزارع بيرية من *B.ammonisgenes* لتحويلها الى نيوكليوتيدات الخاصة . وهكذا فان GMP الذي يعد اهم نكهة نيوكليوتيدي فعال يمكن ان ينتج باضافة الجوانين الى خلايا *B. ammonisgenes*

5. الفيتامينات Vitamins

ينتج الرايبوفلافين (فيتامين B_2) تجاريا بواسطة التخمير والتخليق الكيميائي على حد سواء . وعموما يستخدم الفيتامين المخلق كيميائيا في صناعة العقاقير والادوية والاغذية ، في حين يستخدم الرايبوفلافين المنتج بواسطة التخمير في تغذية الحيوان .

وبصورة عامة يوجد الفيتامين في خلايا الاحياء المجهرية بصورة مرافقات زيمية مثل فلافين احادي النيوكليوتيد (FMN) وفلافين ادينين نيوكليوتيد (FAD) التي ترتبط مع البروتين . وتحتوي المفرطات في انتاج الرايبوفلافين قدرا من FM وFAD مماثل ما تحتويه الاحياء المجهرية الاعتيادية الا انها تمتلك داخلها قدرا كبر من الرايبوفلافين الحر . وتمتاز الاحياء المجهرية الاعتيادية مقدارا يقل عن 10 ملغم من الرايبوفلافين / لتر . ويمكن تقسيم الاحياء المجهرية المفرطة فسي نتاج الرايبوفلافين الى ثلاث مجاميع :

- (1) المفرطات في الانتاج الواطئة وتضم بكتريا الكلوستريديا *clostridia* التي يمكنها انتاج حوالي 100 ملغم / لتر تحت افضل الظروف .
- (2) المفرطات في الانتاج المتدلة مثل الخمائر وخصوصا انواع جنس *Candida* التي يمكنها انتاج ما يقارب 600 ملغم رايبوفلافين / لتر .
- (3) المفرطات في الانتاج العالية وتضم نوعين من الاعفان الشبيهة بالخمائر *Ermothecium ashbyii* و *yeast-like molds* و *Ashbya gossypii* ، ويمكنها تخليق الرايبوفلافين بتركيز تزيد على 10000 ملغم/لتر . ويبدو ان الطريق الكيموحيوي الاساسي نحو الانسراط في انتاج الرايبوفلافين يتضمن وجود الحديد . حيث ان أيونات الحديدوز تثبط بشدة انتاج الرايبوفلافين بواسطة المفرطات في الانتاج الواطئة ، كما تثبط تكوينه بواسطة

المفرطات في الانتاج المعتدلة بدرجة اقل ، في حين ليس لها اي فعل تشبثي تجاه
• *A. gossypii* و *E. ashbyii*

وهناك فرضية تقترح بأن معقد الحديد - فلافوبروتين يمد كاحسا لتخليق
الرايبوفلافين وإذا كان مثل هذا المعقد الحديد - فلافوبروتين انزيمي أو غير
انزيمي هو كايح تخليق الرايبوفلافين ، فإن النمو في بيئة تفتقر الى الحديد
سيمطي خلايا بكايح بسيط أو بدونه وبالتالي لن يكبح تخليق الفلافين •

والفرضية الاخرى هي أن الحديد يكبح انزيمات التخليق الحيوي للرايبوفلافين حيث
يشبط الرايبوفلافين أو أي مشتق آخر الانزيم الاول في المسار الحيوي •

ويعد فيتامين B_{12} الفيتامين الاخر الذي أنتج بواسطة التخمر • وقد
استخدم نوهان مختلفان جدا من البكتريا في هذه الصناعة وهما :

• *Pseudomonas denitrificans* و *Propionibacterium shermanii*

ان الطريق الى تخمر *P. shermanii* هو تفادي كبح التغذية الاسترجاعية بواسطة
فيتامين B_{12} • وعليه تجري المرحلة المبكرة تحت ظروف لا هوائية في غياب
المولد أو المقدم precursor ، 6,5-ثنائي مثيل بنزيميدازول • وتنع هذه
الظروف تخليق فيتامين B_{12} وتسمح بتجميع المادة الوسيطة كوبن أميد
Cobinamide • ثم يسمح بمرور الهواء مع اضافة ثنائي بنزيميدازول السدي

يؤدي الى تحويل الكوبن أميد الى الفيتامين • وفي تخمر *P. denitrificans*
تجري العملية كلية تحت ظروف نقل اوكسجين واطئة ولكن الطريق الى التخمر
هو مانح المثل ، البيتين betaine (أو الكولين) • ويعتمد تكوين فيتامين B_{12}
بواسطة *P. denitrificans* كلياً على البيتين أو الكولين ، الا أن ميكانيكية
التحكم غير معروفة تماماً •

6 . الاحماض العضوية Organic Acids

تستخدم الفطريات الخيطية Filamentous fungi بدرجة كبيرة في
الانتاج التجاري للاحماض العضوية • وفيما يتعلق بالمقادير المنتجة ، يبدو ان
حامض الستريك هو المنتج الرئيس المصنوع بواسطة الفطريات الخيطية • ويقدر
الانتاج من حامض الستريك بأنه يزيد عن 100000 طن سنوياً • وتستخدم العملية

التجارية لتخمير حامض الستريك الفطر *Aspergillus niger* أو *Aspergillus*
أنواعه الطفرية . وقد طورت طرائق متعددة لانتاج حامض الستريك منها : طريقة
تخمير كوجي Koji ، وطريقة المزرعة السائلة في الاحواض الضحلة ، وطريقة
التخمير المغغور .

وقد أثبت Shu و Johnson عام 1948 ان انتاج حامض الستريك في
المزرعة المغغورة يجري في بيئة تفتقر الى الحديد والمنجنيز . ان السمات الرئيسة
للتخمير هي تركيز ابتدائي عال من السكر (حوالي 15%) ومستويات واطئة
من المنجنيز والحديد و pH اوطا من 3.5 . وعادة تجهز الفوسفات والنيتروجين
بمستويات واطئة . وتكون درجة حرارة التحضين حوالي 30°م كما يتطلب وجود
ظروف هوائية عالية . وبعد حوالي 8-10 ايام يتحول الجزء الاعظم من السكر
(80-90%) الى حامض الستريك وتصل قيمة التسحيح الى حوالي 100 غم/لتر .
وحامض الستريك سهل التمثيل ، لذيق المذاق ، وبناء على ذلك فانه كثير الاستعمال
في صناعة الاغذية والعقاقير . اذ يستخدم حامض الستريك كعامل تحميض وممزز
للنكهة ، كما يعمل كمضاد للاكسدة لتثبيت التزنخ في الدهون والزيوت .
ويستخدم حامض الستريك واملحه كمواد منظفة (buffers) في
عدد كبير من الاغذية . وتستهلك صناعة الادوية لوحدها حوالي 16% من
الانتاج المتيسر من حامض الستريك .

وفي السنوات الاخيرة طورت طرائق جديدة لانتاج حامض الستريك بواسطة
خمائر الـ *Candida* وخصوصا من الهيدروكربونات . وبامكان مثل هذه الخمائر
تحويل البرافينات المعادية الى حامض الستريك والايوسمستريك بفعيلة عالية
جدا (150-170% على اساس الوزن) . ويفضل انتاج حامض الستريك
على حامض الايوسمستريك بانتخاب طفرات تفتقر الى انزيم اكونيتيز .

7. التحولات الحيوية Bioconversions

فضلا عن تتابع التفاعلات المتعددة للتخمرات ، فان الاحياء المجهرية تمعد
مفيدة في اجراء عمليات يتحول فيها المركب الى منتج مقارب من الناحية التركيبية
باستخدام انزيم واحد أو عدد بسيط من الانزيمات الموجودة في الخلايا . ويطلق

على مثل هذه العمليات مصطلح التحولات الحيوية BIOCONVERSION

التحولات الميكروبية Microbial Transfromation التي قد تجري مع الخلايا النامية أو الخلايا المستريحة أو السبورات أو الخلايا الجافة . ومن أولى التحولات الحيوية المعروفة هو التحويل الكمي للايثانول الى الخل بواسطة بكتريا حامض الخل . وتعد هذه المجموعة من البكتريا مفيدة وخاصة في إجراء عمليات الأكسدة غير الكاملة للمركبات العضوية وتستخدم تجاريا في أكسدة سموم يثول الى السوربوز ، وهي العملية البيولوجية الوحيدة في طريقة الانتاج الكيميائية الأخرى لحامض الاسكوربيك (فيتامين C) .

وتعد أحياء التحويل الحيوي معروفة لكل الانواع المهمة من التفاعلات الكيميائية . وتكون التفاعلات متخصصة ، وتمثل ذروة تخصصها في التحولات الحيوية للمستحويبات . ويستثمر هذا التخصص في فصل المخاليط الراسمية للأحماض الأمينية وكذلك المواد الوصلية من تخليق البروستاجلاندين . ويفضل تفاعل التحويل الحيوي في حالات كثيرة على الخطوة الكيميائية عندما يتناق الى أيوسر خاص وليس الى مخلوط راسيمي . وتتميز التحولات الحيوية بخصيلة عالية وكما هو موضح في الجدول (5.1) . وتضم المميزات الأخرى ظروف تفاعل معتدلة وازدواج التفاعلات المستخدمة ككائن حي مجهرى يحتوي على عدة انزيمات تعمل بصورة متسلسلة .

ومن الأهمية بمكان عند تطوير التحولات الحيوية فحص تنظيم التخليق الانزيمي أثناء النمو لكون نوعية تعداد خلايا التحويل الحيوي تعتمد على تركيز الانزيم في هذه الخلايا . وغالبا ما تكون المحفزات مفيدة كما تعد شيئا أساسيا وملما لتجنب كبح مواد الايض الهدمي . ويمكن أحداث طفرات لحذف الايض الهدمي الإضافي للمنتج المرغوب . وغالبا ما تعد التفاضية مشكلة فيما يتعلق بتلامس مادة التفاعل مع الانزيم في التلية .

وفي بعض الحالات استخدم النحاس في Mn^{2+} او اضافة العوامل النشطة سطحيا لنقص تأثير هائق النفاذية . كما قد يكون من المرغوب في احيان أخرى تنمية الخلايا على مادة تفاعل معينة وتحويل مادة تفاعل مختلفة ، وتعرف هذه العملية بالـ Cointermetabolism . وقد حلت بعض مشاكل تثبيط ناتج التحولات

الجدول (5.1)
حصيلة بعض التحولات الحيوية

مادة التفاعل	الناتج	الكائن الحي المجهرى	الحصيلة الوزنية (%)
سوربيتول	سوربوز	<i>Gluconobacter suboxydans</i>	98
مانيتول	فركتوز	<i>Gluconobacter suboxydans</i>	95
جليسرول	ثنائي هيدروكسي أسيتون	<i>Gluconobacter suboxydans</i>	95
جلوكوز	حامض 5- كيتوجلوكونيك	<i>Gluconobacter suboxydans</i>	90
جلوكوز	حامض 2- كيتوجلوكونيك	<i>Pseudomonas mildenbergii</i>	100
جلوكوز	حامض الجلوكونيك	<i>Aspergillus niger</i>	97
L- تيروسين	L- دوبا	<i>Aspergillus oryzae</i>	100
بروجسترون	11 α هيدروكسي بروجستيرون	<i>Rhizopus nigricans</i>	90

الحيوية بأضافة راتنجات التبادل الايوني أو بواسطة مزرعة الفصل النشائي • كما استخدمت المزارع المختلطة أو الاضافة المتعاقبة للخلايا لاجراء التحولات الحيوية المتضمنة عدة خطوات بشكل سلسلي والمحفزة بواسطة مزارع مختلطة • كما يمكن حل مشكلة مواد التفاعل غير الذائبة ، خصوصا تلك السائدة في حقل الستيرويدات باستخدام معلقات موزعة بدقة من مواد التفاعل ، أو معلقات في عوامل النشاط السطحي مثل التوينات Tweens ، أو المقدرات الذائبة أو استرات مواد التفاعل •

وفي السنوات الاخيرة حدث تقدم واهتمام كبيران جدا في مجال الخلايا المثبتة (غير الطليقة) immobilized cells لاجراء مثل هذه العمليات • وعادة ما تكون هذه الخلايا اكثر ثباتا من الخلايا الحرة أو الانزيمات ، كما تمد اكثر اقتصادية من الانزيمات المثبتة immobilized enzymes •

وينتج حامض الجلوكونيك عن طريق التحويل الحيوي للجلوكوز بواسطة عدد كبير من الفطريات بضمنها مجموعة *Aspergillus niger* فضلا عن انواع عديدة من جنس *Penicillium* • وفي الغالب تحتوي البيئة على تراكيز من الجلوكوز تصل الى حوالي 30% • ويستخدم حامض الجلوكونيك في صورة ملح الكالسيوم في حالات نقص الكالسيوم • وتستخدم جلوكونات الصوديوم كاممل فصل أو عزل لمنع ترسيب زبد الصابون soap scum على السطوح النظيفة • كما وجد الحامض الحر طريقا للاستخدام كاممل تحميض معتدل في عدد من العمليات الصناعية (مثل تصنيع المعادن ، ودباغة الجلود ، والاغذية) •

8. المذيبات Solvents

يمثل الكحول الايثيلي مادة افضية اولية يمكن انتاجها بواسطة تخمر اية مادة كربوهيدراتية تحتوي على سكر قابل التخمر أو سكر متعدد يمكنه ان يتحول الى سكر قابل التخمر • وتفضل الخناثر في هذه التخمرات غير ان الانواع المستخدمة تتحدد بواسطة مادة التفاعل المضافة الى البيئة • وعموما تستخدم خميرة *Saccharomyces cerevisiae* عند انتاج الكحول من تخمر الهكسوزات ، في حين تستخدم خميرة *Kluveromyces fragilis* في انتاج الكحول من سكر اللاكتوز •

وتحت الظروف المثلى وضمن فترة زمنية واضحة يتحصل بسهولة على حوالي 10 الى 12% كحول بالحجم ، ويبطئ هذا التركيز الكحولي من النمو ويتوقف التخمر . ويمكن للتخمر ان يستمر باستخدام انواع معينة من الخمائر الى تراكيز كحولية قد تصل الى 20% بالحجم . وتتحقق هذه التراكيز بعد أشهر أو سنوات من التخمر ، كما في حالة الانبذة . وبصورة عامة يتم الانتاج التجاري للكحول بواسطة التخمر خلال فترة خمسة ايام ، وتصل التراكيز الكحولية الى حوالي 12% بالحجم .

وفي الوقت الحاضر يصنع الكحول بالدرجة الاساس بواسطة الصناعة البتروكيمياوية من الايثلين . ومع ذلك وفي ظل الاسعار المتزايدة للبترول والفزارة المتوقعة في انتاج الحبوب والمخلفات النباتية يبدو من المرجح أن تستعيد صناعة الكحول الايثلي بواسطة التخمر مكانتها السابقة وتشير الدلائل الى أن العملية التخمرية ستتنافس مع العمليات الكيماوية الصناعية . وفي هذا المجال فان بكتريا الكلوستريديا يعاد حاليا فحسها واختبارها بعد سنوات من الاهمال . وتتمكن بكتريا *Clostridium thermocellum* وهي بكتريا لا هوائية محبة للحرارة العالية أن تحول المخلفات السيلولوزية الى الكحول مباشرة . وتنتج الكلوستريديا الاخرى مركبات مثل الغلات واللاكتات والاسيتون والبيوتانول التي تستخدم أكثر فأكثر مع تسمق ازمة الوقود السائل .

9. بروتين الخلية الواحدة Single Cell Protein

يعد بروتين الخلية الواحدة أحد المنتجات الاولى لايض الاحياء المجهرية وهو استخدام آخر مفيد لخلايا الاحياء المجهرية من أجل توفير البروتينات لتغذية الحيوانات وفي آخر الامر في تغذية الانسان . وقد ضمت هذه المنتجات الخلية تحت تسمية بروتين الخلية الواحدة Single Cell Protein حيث تحتسوي الخلايا على ما يقارب 50-85% بروتين خام . ولهذه البروتينات محتوى عال من الاحماض الامينية فضلا عن الفيتامينات والمعادن ومصادر الطاقة كالليبيدات والكربوهيدرات . ويعد محتواها العالي من الحامض الاميني لايسين ذا اهمية

بالفة جدا في طريقة استعمالها والاستفادة منها • ويسكن تخضير بروتين الخلية
الواحدة من البكتيريا والخمائر والاعفان والطحالب • وقد جرى العديد من الابنات
في هذا المجال عن انتاج بروتين الخلية الواحدة باستخدام بيئات غذائية متنوعة
(كمصادر كربونية) سواء كانت مخلفات زراعية أو صناعية أو مشتقات الصناعات
البتروكيمياوية ، فضلا عن ايجاد أفضل كائن حي مجهرى (سوان بالخربلة والانتخاب
أو بواسطة الطفرات) يمكنه الاستفادة من هذه البيئات الغذائية لاعطاء أعلى
انتاج من الكتلة الخلوية تحت ظروف أنتاج معينة ومسيطر عليها وبأقل النفقات •
وعليه فان النجاح التجارى لبروتين الخلية الواحدة يعتمد بالدرجة الاساس على
اقتصاديات منطقة الانتاج • وينبغي الالتفات الى القيمة الهائلة للخلايا الميكروبية
في حقل معاملة المخلفات sewage treatment ، حيث من الاهمية الخاصة
استخدام مثل هذه العمليات في أن واحد لانتاج الطاقة في صورة غاز الميثان •

الفصل الثاني

المنتجات الثانوية لايض الاحياء المجهرية

Secondary Products of Microbial Metabolism

1 مقدمة

2 طبقة المنتجات الثانوية لايض الاحياء المجهرية

3 المضادات الحيوية

4 تخمرات الانزيمات

1. مقدمة Introduction

تعرف المنتجات الثانوية لايض الاحياء المجهرية بأنها المركبات ذات الوزن الجزيئي المنخفض غير اللازمة للنمو في المزارع النقية . وتتباين المنتجات الثانوية الايضية للاحياء المجهرية كثيرا في تركيبها ، فهي تشمل المضادات الحيوية Antibiotics ، والسموم (توكسينات) Toxins ، والقلويدات Alkaloids ، وعوامل النمو النباتية ، والانزيمات ، والخضاب وغيرها مما لها أهمية اقتصادية كبيرة جدا . ويتم انتاج مثل هذه المواد الايضية التي تعرف أيضا باسم Idiolites بواسطة مجاميع متعددة التصنيف وتوجد غالبا كخليط من المواد الفريدة (الطب من الناحية الكيميائية) . وتنخفض القدرة على الانتاج بواسطة التطفر الذاتي أو التلقائي Spontaneous Mutation (أو فقدان البلازميد) نظرا لكون أغلب المتطفرات ضعيفة في قدرتها الانتاجية .

2. طبيعة المنتجات الثانوية لايض الاحياء المجهرية

Nature of Secondary Products of Microbial Metabolism

ان رائدي تطوير مفهوم المواد الايضية الاولية والثانوية للاحياء المجهرية هما عالم الكيمياء الحيوية الميكروبية البريطاني John D. Bu-Lock وهالم الفسلجة الميكروبية الامريكي Arnold L. Demain حيث نقرا ابعثا واستعراضات عن الايض الثانوي للاحياء المجهرية (Bu Lock, 1961, 1965 a, 1965 b, Demain; 1968, 1972, 1974, Demain, Drew, 1977) . كما أن أبحاثهما واستعراضاتهما المنشورة حديثا يوصي بها لمزيد من القراءة والاطلاع من قبل اي مهتم في الايض الثانوي للاحياء المجهرية .

ان القدرة على انتاج مواد ايضية ثانوية تسود في الغالب بين البكتيريا وخصوصا الاكتينوميستيات ، فضلا عن الفطريات الخيطية . وأن القدرة بين انواع الفطريات الخيطية على انتاج قسم واحد من المواد الايضية الثانوية الذي يطلق عليه اسم المضادات الحيوية تبدو متساوية التوزيع . وهكذا فان انواعا من رتبة Moniliales (التابعة للفطريات الناقصة) والفطريات البازيدية تنتج عددا من المضادات الحيوية أكثر من انواع المجموعة الفطرية الاخرى .

وعندما يمتلك كائن حي مجهري معلومات وراثية من أجل تخليق واحد أو

أكثر من المواد الايضية الثانوية ، فان التعبير عن تلك المعلومات يتنظم بواسطة عدد من العوامل البيئية التي يستطيع بعضها او جميعها تأخير معدل النمو .

وغالبا ما يسيطر على انتاج الاحياء المجهرية الايضية الثانوية بطريقة حرجية بالسيطرة على تركيز بعض الكاتيونات في البيئة . ومن الامور المسلم بها خلال العقود الثلاثة الاخيرة ان البحث عن تأثير المعادن النادرة في انتاج المواد الايضية الثانوية كان يجري بطريقة متقطعة وعابرة ، الا أن هذا لم يمنع الباحثين من مواصلة دراسة تأثير هذه المعادن وخصوصا التراكيذ المؤثرة في حدود الميكرومول .

ويمكن السيطرة على الطبيعة الكيميائية للمواد الايضية الثانوية التي تفرزها الاحياء المجهرية بواسطة الدرجة التي يتعدد عندها النمو . وجاء افضل مثال عن هذه الظاهرة من المشاهدات عن مزارع *Gibberella fujikuroi* التي تنتج نوعين مختلفين من المواد الايضية الثانوية هما-خضاب البوليكيتيد Polyketide المعروفة باسم بيكافيرينات Bikaverins والجبريلينات ثنائية التربينويد المشجعة لنمو النباتات . فعندما ينمو هذا العفن في مزرعة الوجبة الواحدة تحت ظروف تحديد تتروجيني متزايد ، يفرز أولا بيكافيرينات وبعدها يتوقف تخليق هذا الخضاب وتحت ظروف شديدة التحديد للتتروجين يتم افراز الجبريلينات .

والامر الذي لا يدعو الى الدهشة ، ان يكون الحد الفاصل بين المنتجات الاولية والثانوية لايض الاحياء المجهرية غامضا . حيث يعتبر بعض الباحثين عددا من المنتجات الاولية منتجات ثانوية . فمثلا في حالة حامض الايتاكونيك Itaconic acid

نجد ان المسار الرئيس للايض الثانوي في بعض انواع عفن *Aspergillus* يتضمن فضلا عن المجموعة الكاملة الاعتيادية لانزيمات دورة حامض الستريك اضافة انزيم آخر يحفز عملية ازالة الكربوكسيل Decarboxylation من سيس-اكونيتات لاعطاء حامض الايتاكونيك .

واخيرا هناك سؤال مثير هو لماذا تقوم الاحياء المجهرية بتخليق المواد الايضية

الثانوية ؟

لقد قدمت عدة تفسيرات ولكن من اكثرها قبولا لدى معظم المهتمين بفلسفة الاحياء المجهرية هو أن عملية الايض الثانوي تكون هي مهمة الكائن الحي المجهرى وليس الطبيعة الكيميائية للمادة الايضية . وهذا التفسير يقترح ان الاحياء المجهرية

الداخلة في طور النمو الثابت وغير القادرة على انتاج المواد الوسطية ذات الاوزان الجزيئية المنخفضة اللازمة خلال النمو لتخليق مكونات الخلية ، تحول هذه المولدات الى مركبات مفيدة وغير ضارة لا تكبح تخليق المركبات ذات الاوزان الجزيئية المنخفضة .

3. المضادات الحيوية Antibiotics

تعد المضادات الحيوية أفضل مثال عن المواد المعروفة باسم Idiolites ، اذ تمثل أكثر المجاميع أهمية من بين المواد الايضية الثانوية . وقد استخدم مصطلح « مضاد حيوي Antibiotic » لأول مرة من قبل Waksman عام 1942 ويعرف بأنه ذلك المركب الكيميائي المنتج من قبل كائن حي مجهري له القدرة على تثبيط نمو البكتيريا والاحياء المجهرية الاخرى في المحاليل المنخفضة بل وقتلها .

ان تحديدات أو تقييدات هذا التعريف واضحة جدا ، فهو يستثني عوامل العلاج الكيميائية المخلقة النقية كمقاوير السلفا Sulpha drugs فضلا عن المسوالم المضادة للاحياء المجهرية المنتجة بواسطة الاحياء الاكثر رقيا وتشمل الكوينين Quinine واللايسوزايم Lysozyme .

يوجد في الوقت الحاضر حوالي 5500 مضاد حيوي ، حيث تشارك الاكتينوميسيتات لوحدها بحوالي 4000 مضاد حيوي . ولا يزال العمل مستمرا لاكتشاف المزيد من المضادات الحيوية الجديدة وبمعدل يصل الى 300 مضاد حيوي سنويا .

وتتمد بعض الانواع مثل Streptomyces griseus و Bacillus subtilis مفرطة جدا في الانتاج ، اذ ينتج كل منهما أكثر من مضادا حيويا مختلفا . وفي عالم المضادات الحيوية الناجحة تجاريا ، يعد جنس Streptomyces في المقام الاول اذ يجهز حوالي 75% من 100 منتج موجود في السوق .

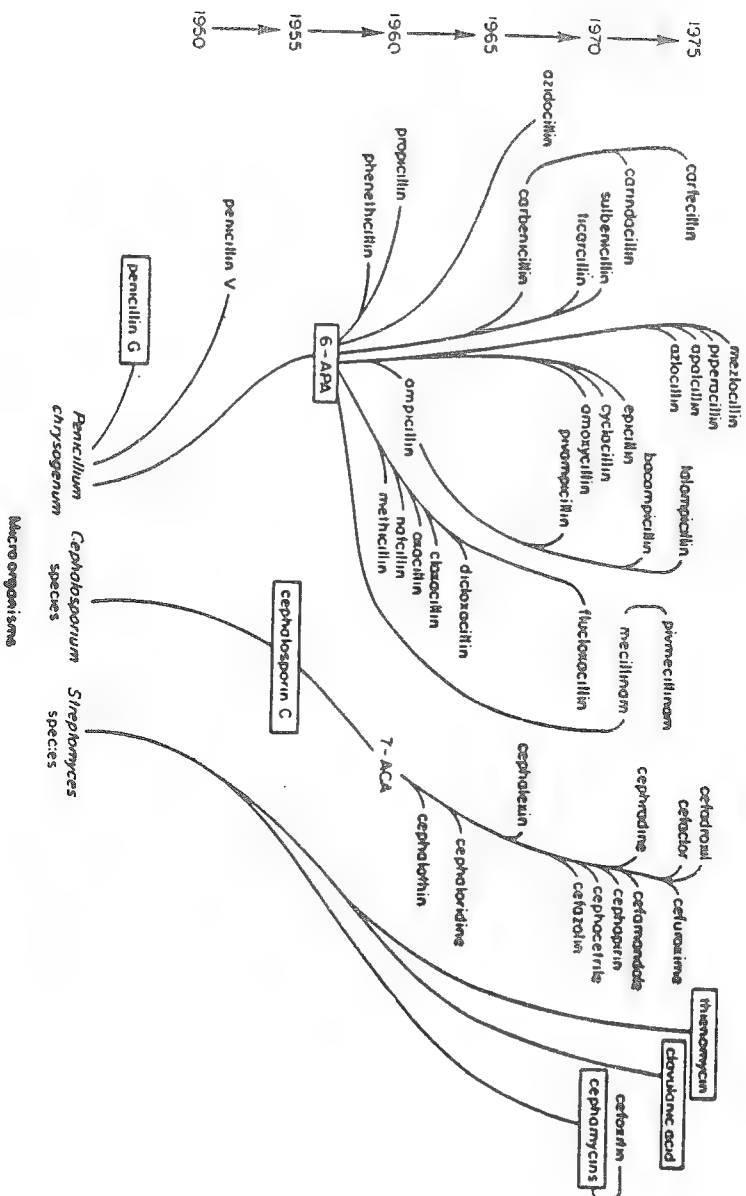
وفي عام 1980 قدر انتاج المضادات الحيوية المنتشرة على نطاق العالم بحوالي 25000 طن . ويتضمن هذا الرقم 17000 طن من البنسلينات Pencillins و 5000 طن من التتراسيكلينات Tetracyclins و 1200 طن من السيفالوسبورينات Cephalosporins و 800 طن من الاريشروميسينات

Eythromycins • ويستمر البحث من أجل اكتشاف مضادات حيوية جديدة وذلك بسبب الانواع المقاومة الطبيعية . وتطور المقاومة ، والحاجة الى منتجات أكثر أمانا • والعديد من هذه المنتجات ممول من قبل الكيمائيين بواسطة تحويل المضادات الحيوية الطبيعية ، ويطلق على هذه العملية بالتخليق الجزئي Semisynthesis كما هو موضح في الشكل (1.2) •

وفي عام 1974 وحده تم التحضير بالتخليق الجزئي أكثر من 20000 من البنسلينات و 4000 من السيفالوسبورينات و 2500 من التتراسيكلينات و 500 من الكناميسينات Kanamycins . و 500 من الكلوروامفينيكولات Chloroamphenicols ان استعمال المضادات الحيوية لم يقتصر على معالجة الامراض كيميائيا في مجالات الطب البشري والبيطري وانما أيضا في تشجيع النمو لحيوانات الحقل وفي وقاية النباتات •

وفي مزرعة الوجبة الواحدة ، تظهر بعض عمليات المواد الايضية الثانوية طور نمو محدد Trophophase يتبعه طور انتاج (Idiophase) • ويتداخل الطوران في بعض التخمرات اذ يعتمد توقيت ذلك على الظروف الغذائية السائدة في المزرعة ، وعلى معدل النمو أو على كليهما • ان انتاج المواد الايضية الثانوية من المحتمل أن يعطي الكائن الحي فرصة تمييز صور الحياة الاخرى ومنافستها بشكل مؤثر • ويساعد التأخير في انتاج المضاد الحيوي حتى بعد طور النمو (Trophophase) الكائن المنتج نفسه نظرا لكونه حساسا اثناء النمو اتجاه مضاده الحيوي • وتتطور المقاومة خلال طور الانتاج Idiophase • وتضمن ميكانيكيات المقاومة في الكائنات المنتجة تحويرا كيميائيا للمضاد الحيوي ، وتغيير هدفه الخلوي ، وتناقص المأخوذ من المفرز منه •

ان تطوير عملية ما من أجل الحصول على مادة ايضية ثانوية قد يستلزم اختبار المئات من المضافات كمولدات ممكنة للنواتج المرغوب وزيادة كميته • وقد يعمل المولد على توجيه التخمر اتجاه تكوين ناتج معين واحد مرغوب على حساب النواتج الاخرى ، وهذا ما يعرف بالتخليق الحيوي الموجه Directed Biosynthesis • وكشمال على ذلك هو استعمال حامض فنييل أستيك فسي تخمر البنزيل بنسلين (Penicillin G) • ومع ذلك ففي العديد من التخمرات لا تزيد المولدات المضافة

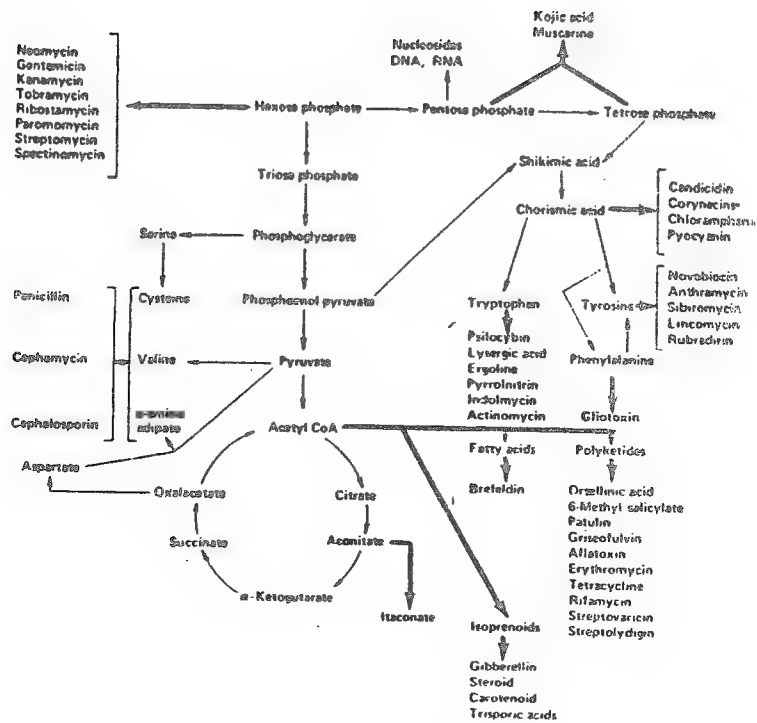


من الانتاج أو توجه التخمرات بسبب ان تخليقها لا تمد خطوة محددة المعدل في تكوين الناتج . وفي مثل هذه الحالات غالبا ما تظهر عملية غريزة المضافات تأثيرات مفاجئة من ناحية التحفيز والتثبيط للجزيئات غير المولدة . وتمود هذه التأثيرات الى تداخلات هذه المركبات مع الميكانيكيات المنظمة الموجودة في كائنات التخمر .

وتتضمن الميكانيكيات التي تحكم بدء تخليق المضاد الحيوي كبح وتثبيط انزيمات انتي بيوتك سينثيتيز antibiotic synthetases . وتشير الادلة المتيسرة ان الكبح يعمل عند مستويات النسخ .

ان المواد الاولية للايض الثانوي هي المواد الايضية الاولية ، الشكل (2.2) ، والتي غالبا ما تبدي تأثيرات سلبية أو ايجابية في الايض الثانوي . وفي حالة المسارات المتفرعة التي تقود الى المواد الايضية الاولية والثانوية ، فان المواد الايضية الاولية تتداخل في الغالب مع تكوين المواد المسماة Idiolites بواسطة تثبيط خطوة بدائية في المسار الشائع وبذلك تمنع تكديس مولد المادة الايضية الثانوية . وعليه في حالة الفطر *Penicillium chrysogenum* تجسد ان اللايسين يتداخل مع التخليق الحيوي للبنسلين بواسطة تثبيط وكبح انزيم هوموسترات سينثيز .

وتتضمن الميكانيكيات الخاصة التي تنظم بداية تخليق المضاد الحيوي تنظيم مواد الايض الهديمي الكربونية ومواد الايض النتروجينية ، وتنظيم الفوسفات ، وعملية الحث . ان العدد الكبير من تخمرات المضادات الحيوية الذي يتداخل معها الجلوكوز يشهد على بروز تنظيم مواد الايض الهديمي الكربونية . وقد لوحظت هذه الظاهرة في الايام الاولى من تطوير انتاج البنسلين وسنوات قبل ادراك أهميته العامة . ورغم كون الجلوكوز المستخدم سريما مادة جيدة للنمو الا انه مادة تفاعل ضئيلة لانتاج البنسلين . ومن الناحية الاخرى يستخدم اللاكتوز ببطء من أجل النمو ولكنه يدعم انتاجا متميزا للبنسلين . وفي يومنا هذا حلت الاضافة البطيئة للجلوكوز محل الاضافة البطيئة للاكتوز (بطريقة الوجبات) في صناعة البنسلين . ان تحديد تركيز الجلوكوز يحافظ ظاهريا على مواد الايض الهديمي التثبيطية والكبحية عند مستوى منخفض . ويمارس ايون الامونيوم وكذلك الاحماض الامينية



الشكل (2.2) • المواد الايضية الاولى كمولات للمواد الايضية الثانية
(تمثل الاسم السميكة المواد الايضية الثانية)

السريعة الاستعمال تأثيرات سلبية في الايض الثانوي . وعليه فان المصادر النتروجينية غير الذاتية (وبطيئة الاستعمال) مثل مسحوق فول الصويا تكون فعالة بشكل ايجابي في التخمرات الصناعية . وكذلك تمارس الفوسفات اللاعضوية تأثيرا سلبيا شديدا في تخمرات المواد الايضية الثانوية بواسطة تنظيم الفوسفاتيز وكذلك بواسطة ميكانيكية غير معروفة قد تتضمن ثلاثي فوسفات الاديوسين أو أي نيوكليوتيد آخر . ومع ذلك كثيرا ما يلاحظ الحث في عمليات الايض الثانوي رغم كون الميكانيكية غير واضحة في معظم الحالات .

وبجانب الانواع الميمنة من التنظيم الملاحظة اعلاه ، تتم السيطرة على بداية الايض الثانوي بواسطة معدل النمو . وبصورة عامة ، لا تنتج المواد الايضية الثانوية عند معدلات نمو قريبة من أقصى معدل للنمو ، لذلك فان معدلات النمو الواطئة تكون ضرورية لاحداث الايض الثانوي . وفي الحقيقة يمكن تحويل طور الإنتاج Idiophase الى طور النمو Trophophase عندما تستخدم بيئة تدعم معدلات نمو واطئة لحسب .

ويتمهي التخليق الحيوي للمضاد الحيوي عند انحلال انزيم انتي بيوتيك سينثيتيز أو بسبب تثبيط التغذية الاسترجاعية وكبح هذه الانزيمات . وعلى سبيل المثال يحدد تخليق الكلوروامفنيكول بواسطة كبح انزيم أريل أمين سينثيتيز وكذلك يحدد انتاج القلويدات الايرجوتية Ergot Alkaloids بواسطة تثبيط انزيم داي مثيل آليل تربوفان سينثيتيز . وفي كلتا الحالتين تعد هذه الانزيمات ابتدائية للمسار الثانوي .

ونظرا لسيطرة الميكانيكيات الوراثية ذاتها على انتاج المواد الايضية الاولى والثانوية ، فان التطفر والدريلة من أجل الحصول على مزارع ذات انتاج افضل قد عملا على تحسين انتاج المواد المساء Idiolites . ويعد التطفر مسؤولا مما يقارب من 100-1000 مرة من التقدم والتحسين في مجال انتاج المضادات الحيوية . وقد خلق التطفر مواد ايضية ثانوية جديدة مثل 6- دي مثيل كلوروتراسيكلين و 6- دي مثيل تتراسيكلين .

والطور الاخر وهو التخليق الحيوي التطفري Mutational Biosynthesis

يستخدم المتطفرات غير القادرة على تكوين جزء من المضاد الحيوي ما لم تزود البيئة

بذلك الجزء • وبالتالي يضاف Idiophroph مماثل لذلك الجزء المفقود وغالباً ما يتدمج في مضاد حيوي جديد • وقد أدى استخدام التخليق الحيوي التطفري الى اكتشاف العديد من المشتقات الجديدة للمضادات الحيوية وخصوصاً من مجموعة أمينوسايكلوتول Aminocyclitol •

4. تخمرات الانزيمات Enzyme Fermentations

تمتد الانزيمات قسماً مهماً بين منتجات الاحياء المجهرية السائدة • وعموماً فإن الانزيمات ذات قيمة ونفع كبيرين في التصنيع بسبب نشاطها السريع والمؤثر بتركيزات واملئة وعند ظروف معتدلة من قيم الـ pH ودرجات الحرارة ، ودرجة انتمصها المالية لمادة التفاعل (بحيث تقلل من تكوين النواتج الجانبية) ، وسميتها الفسيطة ، وأخيراً سهولة إيقاف نشاطها بمعاملة معتدلة • ومن أكثر الانزيمات التجارية الشائعة هي البروتيازات proteases والاميليزات Amylases والبكتينيزات Pectinases والاميلوجلوكوسيدز Amyloglucosidase وجلوكوزايسومراز Glucose isomerase (زيلوز ايسومراز Xylose isomerase) والرينين Rennet •

وتمتد الصناعات التي تتعامل مع تكسير النشا وتصنيع المنظفات المستفيدة الرئيس من الانزيمات الميكروبية • والصناعات المستخدمة لهذه الانزيمات هي : الفاكهة والنبيد والخبز والطحن والالبان وصناعات التقطير • وينتج سنوياً حوالي 500 طن من بروتينز الباسيلاس Bacillus Protease (على الاساس النقي) ،

وينتج اميلوجلوكوسيدز وكذلك اميليز الباسيلاس Bacillus Amylase بحوالي 300 طن سنوياً ، وجلوكوز ايسومراز بحوالي 100 طن سنوياً • وتمتد الاحياء المجهرية جذابة كمصادر انزيمية لسهولة زيادة تركيز الانزيم بواسطة المعالجة البيئية والوراثية ، وقد تصل هذه الزيادة الى الاف المرات • ومن

الطبيعي أن يكون فصل الانزيم أكثر سهولة عند نشاط نوعي Specific Activity أقل • وتستخدم خلايا الاحياء المجهرية كمصادر للانزيمات بسبب قصر مدة النقص ، ورخص البيئة الغذائية ، وسهولة تطويز أساليب غريبة بسيطة ، ووجود بروتينات متميزة من السلالات المختلفة التي تحفز التفاعل ذاته • وتسمح النقطة الأخيرة

بدرجة من المرونة في اختبار ظروف التخمر ما دامت هذه الانزيمات يمكن ان تمتلك درجات متباينة من الثبات وال pH والحرارة المثلى .

وفي المقعد الاخير ، استعملت الانزيمات الميكروبية بشكل متزايد في المجالات التي استعملت فيها الانزيمات النباتية والحيوانية على نحو تقليدي ، وتتضمن هذه التحولات الاحلال الجزئي للاتي :-

- (1) اميليزات بكتريا *Bacillus* وعفن *Aspergillus* محل اميليزات مولت الشعير والقمح في صناعات البيرة والخببز والنسيج .
- (2) بروتيازات العفن *Aspergillus* محل البروتيازات النباتية والحيوانية في الخزن المبرد Chill-proofing للبيرة وتطرية اللحوم .
- (3) بروتيازات عفن *Aspergillus* وبكتريا *Bacillus* محل بروتيازات البنكرياس في تطرية الجلود وتحضير المنظفات .
- (4) رنين عفن *Mucor* محل رنين المعجول في صناعة الجبن .

ان التطبيق الجديد الرئيس للانزيمات الميكروبية هو استعمال جلوكوز ايسومريز بالاشتراك مع α -أميليز وأميلوجلوكوسيديز لتحويل النشا الى خليط من الجلوكوز والفركتوز المعروف بشراب الذرة العالي الفركتوز . وقد أنتج حوالي 500000-1000000 طن من هذا الشراب المحلي التجاري في الولايات المتحدة الامريكية وحدها عام 1976 . وفي الواقع ان تطور انتاج انزيم جلوكوز ايسومريز قد سمح لصناعة الطعن الرطب للذرة ان تحتل 30% من صناعة السكر في حمل المحليات .

وتتضمن التطبيقات الاخرى للانزيمات التي هي قيد الاستعمال الان او تحت الاختبار ، امينوسيكليز *Aminocyclase* لفصل احماض DL-الامينية ، وبنسلين أسيليز لانتاج البنسلينات شبه المخلقة ، و B- جالاكتوسيديز للتحلل المائي للاكتوز في الشرش ، وانزيمات لصناعة الاحماض الامينية من المولدات المخلقة ، والانزيمات المستخدمة للتحليل فسي الاكترودات الانزيمية ، والسيليوليزات ، والهيميسيوليوليزات والانزيمات المحللة للجنين وذلك لتحويل المخلفات والمصادر القابلة للتجديد الى سكريات ووقود سائل ومواد كيميائية .

ويتزايد الاهتمام في الوقت الحاضر حول تثبيت الانزيمات

Enzyme Immobilization ، وهي عملية حجز الانزيم بطريقة تسمح له بالانفصال فيزيائيا عن مادة التفاعل والنتاج لاعادة استخدامه . وعموما يتم تثبيت الانزيم بارتباطه كيميائيا أو فيزيائيا مع مادة صاندة Supprot غير ذائبة أو بحجزه بواسطة شفاء نصف ناضج . وعليه يقال عن الانزيمات غير المثبتة بأنها طبيعية native أو ذائبة Soluble . ولتثبيت الانزيمات فوائد عديدة منها : -

- (1) ازيادة ثباتيتها ، (2) امكانية اجراء عمليات التحويل بصورة مستمرة ، (3) الحصول على نواتج تفاعل أكثر نقاءة ، (4) تقليل مشاكل التدفق Effluent ، (5) تقليل تثبيط مادة التفاعل ، (6) تقليل تثبيط ناتج التفاعل ، (7) سهولة استرجاعها واعادة استخدامها في عملية تمويل جديدة ، (8) امكانية تثبيت أكثر من انزيم للقيام بأكثر من عملية واحدة .

ومع ذلك فإن كلفة اسلوب التثبيت وفقدان النشاط خلال عملية التثبيت تمسد عوامل سلبية ينبغي وضعها في الاعتبار . ان المشكلة الرئيسة المحددة لتطور تقنية الانزيمات هو النقص في تيسرها . حيث ينسر تجاريا حوالي 10% فحسب من حوالي 2000 انزيم مذكور في المراجع .

وقد استثمر التنظيم الوراثي للتخليق الحيوي للانزيمات في تطوير التخمرات الانزيمية . ومن العوامل الهمة المؤثرة في ذلك : الحث الانزيمي ، وكبح التغذية الاسترجاعية ، ومواد الايض الهدمي الكربونية ، وكبح المواد الايضية النتروجينية . وتضاف المواد المحثة من أجل زيادة تكوين الانزيم بمقدار يصل الى 1000 مرة . وكبدل ، تجرى الطفرات بحيث تسمح بانتاج انزيمي عال بدون المادة المحثة . وتتم مقاومة كبح التغذية الاسترجاعية بواسطة اضافة مثبطات المسار ، وتحديد الامداد من حامل النمو الى المتطفر الفدائي (المتطفر ذو القدرة التخليقية الناقصة) Auxotrophic Mutant ، واستخدام المشتقات البطيئة الاستغلال من عامل النمو المطلوب ، أو بالنمو البطيء للمتطفرات المحتاجة جزئيا الى مغذيات معينة Bradytrophic Mutants (المتطفرات ذات القدرة التخليقية الناقصة جزئيا Partial auxotrophs) . ويتم تجنب كبح مواد الايض الهدمي الكربونية ومواد الايض النتروجينية بالاستغلال البطيء للمصادر الكربونية والنتروجينية على التوالي . وتتضمن الحلول الوراثية لمصنعات ميكانيكيات الكبح المختلفة عسزل المتطفرات المنظمة التي لا تكون حساسة لمثل عمليات السيطرة هذه .

الفصل الثالث

العوامل الوراثية للأحياء المجهرية

Genetic Factors of Micoorganisms

1. مقدمة
2. الاوبيرونات البكتيرية
3. الجينات المنقودية في الفطريات
4. السيطرة على التعبير عن الجينات في الاحياء المجهرية
- 1.4. السمات العامة لتنظيم الجينات
- 2.4. الخواص العامة للجينات القابلة للتنظيم

1 . مقدمة Introduction

تمد العوامل الوراثية من أهم العوامل المؤثرة في نمو ونشاط وتكاثر الاحياء المجهرية عموما . ويزداد دورها أهمية في الاحياء المجهرية الصناعية اذ غالبا ما تتحدد نوعية وكمية نواتج التخمر بتفاعل العوامل الوراثية والبيئية . ويتقدم علم الوراثة وتشعب فروعه ظهر العديد من الدراسات والابحاث التي تعني بدراسة العوامل الوراثية للاحياء المجهرية واساليب التنظيم والسيطرة عليها حتى اصبح من الممكن القول بأن هناك فرعا من علم الوراثة يدعى « الوراثة الميكروبية Microbial Genetics » . وسنتناول في هذا الفصل السمات المميزة للمادة الوراثية للبكتيريا والفطريات دون الخوض في أساسيات علم الوراثة مع التركيز على بعض الجينات المسؤولة عن انتاج أو تكسير مركبات مهمة في مجال الميكروبيولوجي الصناعي .

كذلك فإن للسيطرة على الجينات الميكروبية واساليب تنظيم التعبير عنها دورا مهما في تحديد تركيب وسط التخمر وبالتالي نوعية وكمية النواتج . ان التنويه عن هذه العوامل يعد مدخلا لا غنى عنه الى الاتجاهات البحثية الحديثة المتبعة في سيطرة الانسان وتحكمه في المادة الوراثية للاحياء المجهرية بما في ذلك ابتكار واستنباط السلالات ذات الصفات المرغوبة من ناحية احتياجاتها الغذائية او قدرتها على انتاج كميات من ناتج التخمر تفوق بكثير الكميات المتسادة (المفرطات في الانتاج Hyper-producers) .

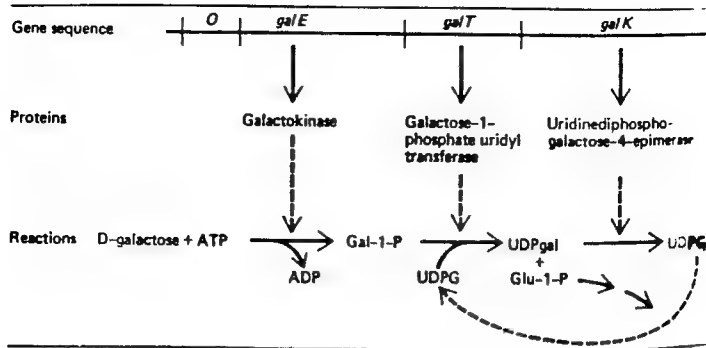
2. الاوبرونات البكتيرية Bacterial Operons

يتألف الاوبرون البكتيري من اثنين أو أكثر من الجينات المميزة اذ غالبا ما تتخذ هذه الجينات شكلا عنقوديا كما تتأثر هذه الجينات بالطفرات والتغيرات الوراثية بصورة مستقلة ، أي ان حصول طفرة ما في احدها لا يؤثر في الجينات الاخرى المشتركة في تكوين الاوبرون . وكذلك تسيطر هذه الجينات على بروتينات مختلفة تقوم بوظيفة واحدة ، حيث يكون التعبير عن الاوبرونات البكتيرية خاضعا للتنظيم الخلوي ، وتوجد منطقة عند نهاية المعث (Promotor) للاوبرون تدعى المعث (Operator) ويستطيع كل محدث ان يتفاعل مع بروتين منظم

محدد بواسطة جهة وراثية معينة إذ يكون وجود او غياب معقد المحدث - المنظم

(Operator-Regulator) العامل المحدد لنسخ (Transcription)

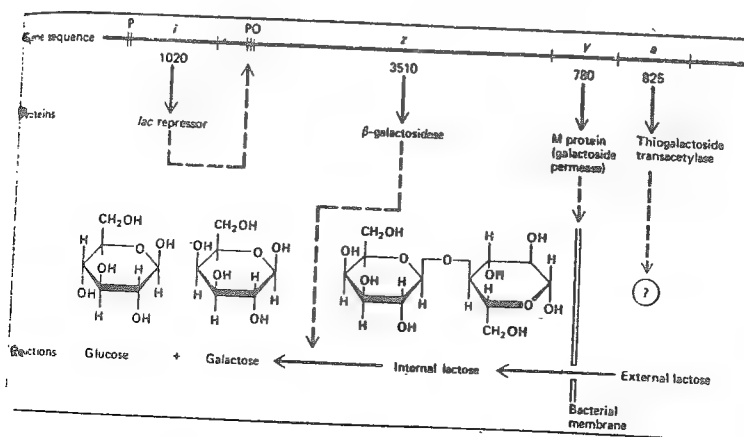
الايرون ، اي التعبير او عدم التعبير عنه . ولتوضيح هذه المجموعة من الصفات لنلاحظ بعض الايرونات البكتيرية ذات الاهمية في مجال التخمرات الصناعية . ومن ابسط الامثلة على ذلك هو اويرون الجالاكتوز (جال - اويرون *gal operon*) من بكتريا *E. coli* الذي تتجمع فيه مجموعة جينات تسيطر على انزيمات تحفز خطوات أيضية متعاقبة (الشكل 1.3) . اذ يكون تسلسل الجينات في الايرون بمثابة مرآة تمكس تسلسل نواتج الجين ، اي الانزيمات التي تقوم بتكسين الجالاكتوز وتحويله الى جلوكوز 1- فوسفات و UDP - جلوكوز . حيث تسيطر الجينات جال- E و جال- T و جال- K على تخليق الانزيمات جالاكتوكينيز، و جالاكتوز 1- فوسفات يوريديل ترانسفيريز ، ويوريدين داي فوسفو جالاكتوز 4- ايبيميريز على التوالي .



الشكل (1.3) . اويرون الجالاكتوز في *E. coli* (جال - اويرون)

(حيث O = المحدث ، Gal-1-p = جالاكتوز-1- فوسفات ، UDPGal = يوريدين ثنائي فوسفوجلوكوز ، UDPGal = يوريدين ثنائي فوسفو جالاكتوز ، Glu-1-p = جلوكوز-1- فوسفات)

أما المثال الآخر على الاوبيرونات البكتيرية هو أوبيرون اللاكتوز (لاك - اوبيرون lac operon) في *E. coli* أيضا الذي يمثل نوعا من الاوبيرونات يختلف بدرجة كبيرة عن جال-اوبيرون . اذ ان هناك جينا واحدا فقط (الجين z) من بين الجينات الداخلة في تركيب الاوبيرون (a,y,z) يكون مسؤولا عن تخليق انزيم يشترك بصورة مباشرة في مسار أيضي كما هو موضح في الشكل (2.3) .



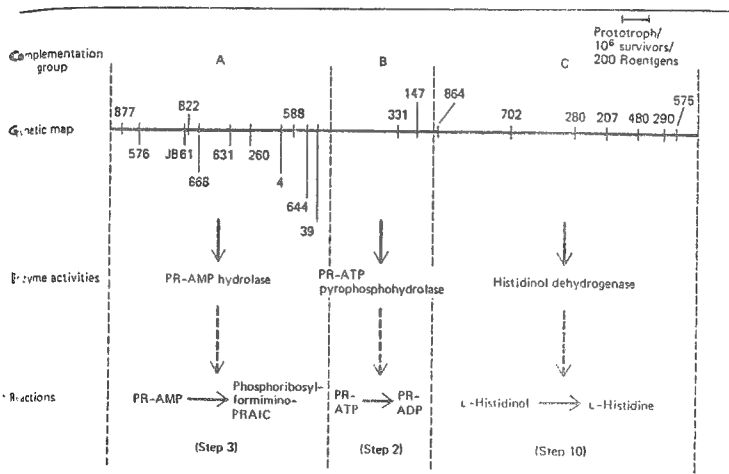
الشكل (2.3) اوبيرون اللاكتوز في *E. coli* (لاك-اوبيرون)
 (حيث : B- المحدث ، o = المحدث ، i = الجين المنظم ، وتشير الارقام الى عدد
 ازواج القواعد النروجينية في كل جين) .

ان ناتج الجين (z) هو سلسلة ببتيدية متعددة طويلة منفردة ذات وزن جزيئي يبلغ 134000 حيث ترتبط هذه السلسلة مع ثلاث اخرى مماثلة في تركيب رباعي مكونة انزيم B- جالاكتوسيديز (ذا تركيب رباعي الجزيئات tetramer) • ويقوم هذا الانزيم بتحفيز التحلل المائي لسكر اللاكتوز (أو أي سكر آخر من نوع B- جالاكتوسيدات) الى جلوكوز وجالاكتوز حيث يعتبر هذا التفاعل الخطوة الاساس في تخمر اللاكتوز بواسطة الاحياء المجهرية • أما ناتج الجين (y) فانه لا يمثل انزيمًا ذا دور في الايض الهديسي وانما جزيئة بروتينية يطلق عليها بروتين M- أو تسمى جالاكتوسيد بيرميز (galactoside permease) تتمركز في غشاء الخلية البكتيرية وتعمل بصورة متخصصة على نقل اللاكتوز والجزيئات المشابهة من الوسط الخارجي الى داخل الخلية • ويمد الجين (a) ، وهو الجين الاخير في الاوبيرون ، مسؤولا عن الانزيم ثيوجالاكتوسيد ترانس أسيتيليذ الذي لا تعرف له أية وظيفة داخل الخلية لحد الان • ويلاحظ ان السلالات التي تخلو من هذا الجين تبدي سلوكا طبيعيا في استعمال وتخمر اللاكتوز الامر الذي ولد الاعتقاد بعدم وجود دور أساس لهذا الجين في استعمال اللاكتوز والاستفادة منه • ويلاحظ من الشكل (2.3) وجود كابح (repressor) يسيطر عليه الجين المنظم يبرز دوره عند وجود سكر سداسي (جالاكتوز أو جلوكوز) في الوسط ، الامر الذي لا يتطلب تخليق البروتينات الاخرى التي يسيطر عليها الاوبيرون اذ ان الخلية تفضل استعمال السكر السداسي على استعمال اللاكتوز كمصدر للكربون •

العينات المنقودية في الفطريات Clusted Heteroloci in Fungi

لقد تركزت معظم الدراسات على الخميرة والفطر *Neurospora* حيث استهدفت تشخيص الاوبيرونات في هذه الاحياء • الا ان الملاحظ هو عدم امتلاك التراكيب المنقودية للجينات في هذه المجموعة لجميع الخواص المميزة للاوبيرون النموذج في الخلايا البروكاريوتية (بدائية النواة) procaryotic • وسنكتفي بذكر مثالين على هذه الانظمة الفطرية • المثال الاول هو his-4 Region فسي الخميرة • ان المعلومات الوراثية الموجودة في هذه المنطقة تسيطر على انتاج ثلاثة انزيمات تشترك في التخليق الحيوي للحامض الاميني هستيدين اذ تسيطر هذه

الانزيمات على الخطوات 10,3,2 من خطوات مسار التخليق الحيوي لهذا الحامض
الاميني وكما هو موضح في الشكل (3.3) .



الشكل (3.3) • منطقة his-4 في الخميرة •

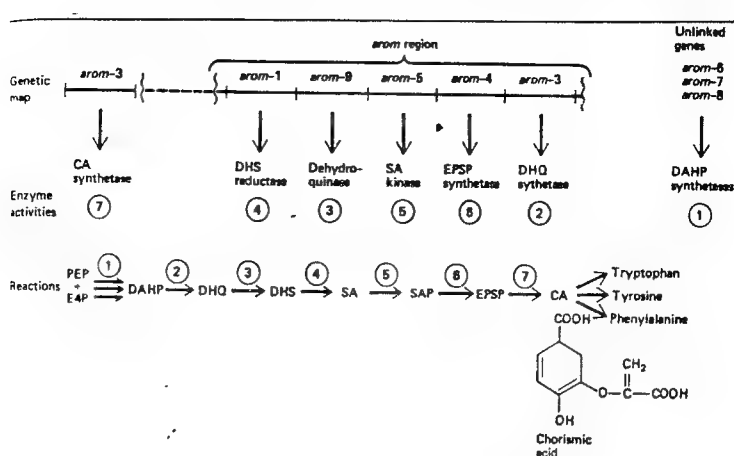
(حيث R = رايبيوسيل ، P = فوسفات ، وتبرم الأرقام الموجودة على الخارطة الوراثية من الطفرات)

اذ يحفز انزيم PR-ATP هيدروليز الخطوة الثالثة في مسار التخليق ، ويحفز انزيم PR-AMP بيروفوسفوهيدروليز الخطوة الثانية ، في حين يحفز انزيم هستيدينول ديهيدروجينيز الخطوة العاشرة والاخيرة في المسار . أما بقية الانزيمات التي تشترك في المسار فان السيطرة عليها تكون بواسطة جينات منتشرة على كروموسومات اخرى مختلفة . وهذا يمد الفرق الاساس بين توزيع جينات الهستيدين في الخميرة وتوزيعها في بكتريا E.coli حيث تكون السيطرة على انزيمات المسار بواسطة جينات تؤلف اوبيرونا واحدا .

أما المثال الثاني على الجينات المنقودية فهو المنطقة الاروماتية (arom Region) في فطر Neurospora . وتسيطر هذه المنطقة على خمسة انزيمات تشترك في تخليق حامض الكوريزميك Chorismic acid الذي يمد

مولدا precursor لعدد من الاحماض الامينية الاروماتية مثل التربتوفان والتيروسين والفنيل الانين وكما هو موضح في الشكل (4.3) . أما بقية الانزيمات التي تشترك في مسار تخليق حامض الكوريزميك فهي كوريزميك أسيد سينثيتيز و DAHP سينثيتيز ، فان السيطرة عليها تكون بواسطة جينات لا تقع ضمن خارطة المنطقة الاروماتية .

وتوجد الانزيمات الخمسة التي توجه من قبل هذا المنقود الاروماتي في الغلبة على هيئة متكاملة بعضها مع بعض مكونة كتلة بروتينية ذات وزن جزيئي قدره 230000 ، في حين تكون هذه الانزيمات في البكتريا بصورة خمسة بروتينات منفصلة ومستقلة بعضها عن بعض . وفي الواقع تتكون الكتلة البروتينية من كتلتين رئيسيتين متماثلتين حيث يبلغ الوزن الجزيئي لكل منهما 115000 وتبدي إكل منهما نشاط الانزيمات الخمسة الداخلة في تركيبها .



الشكل (4.3) المنطقة الاروماتية في النمط Neurospora

(حيث PER حامض فوسفوانيلول بيروفيك ، E4P = ارثيروز-4- فوسفات ، DAHP = ديوكسي اراينوهبتولوسونيك أسيد فوسفات ، DHG = حامض ديهيدروكوينيك ، DHS = حامض ديهيدرو شيكيميك ، SA = حامض شيكيميك ، SAP = فوسفات حامض شيكيميك ، EPSP = فوسفات حامض اينول بيروفيل شيكيميك ، CA = حامض كوريزميك) .

4. السيطرة على التعبير عن الجينات في الاحياء المجهرية

تتسم السيطرة على التعبير عن الجينات وتنظيمه في الاحياء المجهرية بسمات تميزها عن تلك الملاحظة في الحيوانات والنباتات . فان كائنا حيا مجهريا مثل *E. coli* يبدو كروموسومه في حالة تكرار Replication مستمرة والذي يمكن ان تستغرق دورة حياته عشرين دقيقة يتبع اساليب في السيطرة والتنظيم الجيني تميزه عن النباتات والحيوانات . وفي هذا المجال لا بد من استعراض السمات العامة لتنظيم الجينات اولا .

1.4. السمات العامة لتنظيم الجينات :

من الممكن وضع فروقات اساسية بين الجينات التي يخضع التعبير عنها للتنظيم والجينات التي لا يخضع التعبير عنها للتنظيم . ويطلق على الاخيرة اسم الجينات التكوينية Constitutive Genes والتي يتم التعبير عنها بصورة مستمرة بحيث تكون نواتجها (انزيمات مادة) موجودة بصورة مستمرة وثابتة في الخلية وبفص التراكيز تقريبا بغض النظر عن ظروف النمو وسواء كانت مواد تفاعل تلك الانزيمات موجودة أو غير موجودة في الوسط . اما الجينات القابلة للتنظيم Regulated Genes فان التعبير عنها يتعرض الى تعوير بفعل المؤثرات الكيميائية التي تظهر وتختفي من بيئة الجين . وينبغي هنا تأكيد أن هذا التعريف للجين التكويني لا يعني بأي حال من الاحوال عدم خضوع هذا النوع من الجينات الى التنظيم والسيطرة الغلويين . وفي هذا المجال لا بد ان نذكر اهم مستويات السيطرة التي تبديها الخلية على التعبير عن جميع انواع الجينات (وبضمنها الجينات التكوينية) والتي تلخص فيما يلي :

(1) تركيب المحث Promotor Structure قد يؤثر تركيب المحث في تكرار بد النسخ transcription لجين معين بواسطة RNA- بوليميريز معتمد على ال DNA . وبواسطة هذا المستوى من السيطرة تستطيع الخلية التحكم بمقدار منتج الجين الموجودة في الخلية .

(2) تركيب نسخة الجين Structure of Genes Transcript يحدد تركيب تركيب الجين للنسخ الى درجة كبيرة سرعة تفسير الرسالة message الوراثية

بواسطة انزيمات الرايبونوكلييز بعد انتهاء النسخ .

(3) اشارة البدء Start Signal قد يؤثر تسلسل القواعد المرتبط مع اشارة البدء AUG في نسخة جين ما في سهولة وسرعة بدء ترجمة Translation تلك النسخة .

ولعل الفارق الاكثر دقة بين الجينات التكوينية والجينات القابلة للتنظيم يكمن في كون عوامل السيطرة على التعبير عن الاولى محددة وغير قابلة للتغيير ، في حين تكون تلك العوامل قابلة للتحويل والتغيير في النوع الثاني . واخيرا فانه بالامكان تحديد اي الانزيمات في بكتريا E.coli يخلق تكوينيا وايها يخلق بنسبام على حاجة الخلية . وبصورة عامة تشمل الانزيمات التكوينية constitutive

enzymes تلك الانزيمات التي تحتاجها الخلية بصفة دائمة ومستمرة . وعليه فان الانزيمات التي تشترك في ايض الجلوكوز كإنزيمات التحلل الجلايكولي ومسار احادي فوسفات الهكسوز تعد من الانزيمات التكوينية . وفي المقابل فان ايض السكريات الاقل شيوعا من الجلوكوز كاللاكتوز والارابينوز والجالاكتوز يتم بفعل الانزيمات القابلة للتنظيم (regulated enzymes) ، اذ يصبح اقتصاديا لهذه البكتريا ان تخلق وتطلق مثل هذه الانزيمات فحسب في الحالات التي تتواجد فيها مواد تغاهاها في الوسط . كذلك تقوم الجينات القابلة للتنظيم بتحديد انزيمات مسارات التخليق الحيوي كمسارات تخليق الاحماض الامينية والبيورينات والبريميدينات وغيرها ، حيث تخلق مثل هذه الانزيمات في حالة وجود حاجة لنواتجها التخليقية .

2.4. الفوضى العامة للجينات القابلة للتنظيم :

بصورة عامة هناك نوعان من الاساليب تتبعهما الخلية لحصر التعبير عن الجينات القابلة للتنظيم في مناسبات معينة . ويمكن ان تبدي الخلية سيطرتها على مستوى النسخ نظرا لان الجين لا ينسخ الا في حالة كون الظروف مناسبة لذلك . كما يمكن للخلية ان تبدي السيطرة على مستوى الترجمة اذ لا تتم ترجمة الحامض النووي الرسولي (mRNA) الناتج عن الجين القابل للتنظيم الى بروتين ما لم ترتبط بعض العوامل الرايبوسومية بالرايبوسومات المسؤولة عن التخليق بتاثير بعض

المؤثرات البيئية • أما في حالة تنظيم نسخ الجين فإن السيطرة تتم بشمل بروتينات موجودة في الكروموسوم بصورة قريبة جدا من الجينات التي تسيطر عليها • ويمكن تصنيف هذه البروتينات الى صنفين الاول هو المحث *Promotor* والثاني هو *operator* • وكما ذكرنا آنفا فان الجزيئة ذات الدور الاساس في عملية التنظيم هي البروتين المنظم *Regulator Protein* الذي تمتلك القدرة على الارتباط بصورة متخصصة مع منطقة محدث أو محث معينة • ولكون هذا الارتباط يستهدف تنظيم نسخ الجين فان هناك ضرورة لوجود عامل اضافي يتحكم في حدوث ارتباط يعرف باسم جزيئة المؤثر *Effector Molecule* • ومن المعروف حاليا ان المؤثر هو جزيئة صغيرة (سكر أو حامض اميني أو نيوكليوتيد) • وعلى الصوم هناك خمسة عناصر اساسية في التنظيم الوراثي في البكتريا تتلخص فيما يلي :-

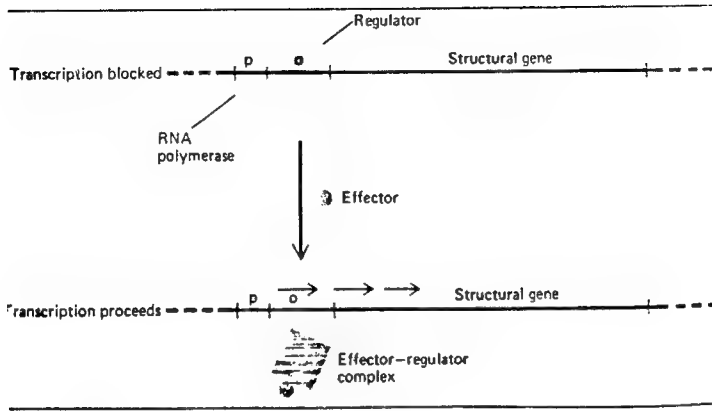
(1) الجين التركيبي القابل للتنظيم أو عنقود الجين (كما في حالة الاوبيرونات)

(2) المحث •

(3) المحث •

(4) البروتين المنظم والجين المنظم الذي يتحكم به ، حيث يرتبط البروتين المنظم مع المحث ويثبط التعبير عن الاوبيرون ما دام المؤثر *Effector* غائبا عن الوسط • أما في حالة ظهور جزيئة المؤثر في الوسط فانها مرتبطة ما ترتبط مع المنظم « صاحبة » آياه وبالتالي تفسح المجال أمام التعبير عن الاوبيرون لكي يأخذ مساره وكما هو موضح في الشكل (5.3) •

(5) جزيئة المؤثر *Effector* •



الفصل (5.3) - العلاقة بين المحث (P) والمحث (O) والجين التركيبي القابل للتنظيم

وكما ذكرنا آنفا فان مسك ثلاثة بروتينات تشترك في عملية استعمال سكر اللاكتوز من قبل الاحياء المجهرية ، حيث تتحكم في هذه البروتينات ثلاثة جينات تركيبية تؤلف مجتمعة لأك-أوبيرون . وتتفاوت الاحياء المجهرية في قدرتها على استعمال اللاكتوز بدرجة كبيرة حتى على مستوى السلالات . فقد وجد Mahoney

وأخرون (1975) عند دراسة 49 سلالة من خميرة *Kluyveromyces fragilis*

ان هذه السلالات اظهرت فروقات كبيرة في قدرتها على التخليق الحيوي لانزيم

اللاكتيز (B- جالاكتوسيديز) وكما هو مبين في الجدول (1.3) -

الجدول (1.3)

التخليق الحيوي لانزيم اللاكتوز بواسطة سلالات من *Kluyveromyces fragilis*

بيئة النمو		خميرة لكل لتر	النشاط لكل ملغم	الناتج الكلي لكل لتر
Yeast strain		Yeast per liter of medium	Activity per mg dry weight	Total yield per liter of medium
(UCD #) ^b	(NRRL #) ^c	(g)	(lactose units)	(lactose units $\times 10^{-3}$)
55-31	Y-1196	5.121	2.45	12.5
C21	5.313	2.30	12.2
72-297	4.984	2.37	11.8
55-61	Y-1109	4.325	2.44	10.7
55-25	Y-1159	3.870	2.45	9.48
55-63	Y-1154	3.604	1.79	8.96
55-59	Y-1207	3.649	2.34	8.66
55-35	Y-1100	4.328	1.87	8.09
55-3	Y-108	3.742	2.08	7.78
55-38	Y-1208	3.819	2.03	7.75
55-62	Y-1137	4.933	1.55	7.65
55-29	Y-1183	4.424	1.40	6.19
55-52	Y-1163	4.476	1.22	5.46
55-22	Y-1151	3.501	1.51	5.29
55-57	Y-1195	4.067	1.20	4.88
55-2	Y-88	3.963	1.23	4.87
55-6	Y-610	3.947	1.12	4.42
55-13	Y-1012	3.753	1.17	4.39
72-5	5.421	.784	4.26
55-9	Y-872	4.318	.973	4.20
55-32	Y-1204	4.348	.945	4.13
55-16	Y-1122	4.992	.805	4.02
50-16	3.058	1.21	3.70
50-18	4.189	.814	3.41
55-27	Y-1177	3.576	.946	3.38
55-36	Y-1200	3.150	1.07	3.37
55-20	Y-1149	3.584	.853	3.06
55-55	Y-1176	3.817	.786	3.00
C-106	3.774	.781	2.95
55-66	Y-1198	3.918	.728	2.85
55-56	Y-1182	6.140	.464	2.83
55-1	4.405	.645	2.84
55-19	Y-1131	3.953	.705	2.79
55-4	Y-176	2.964	.914	2.71
55-30	Y-1189	2.697	1.00	2.70
50-84	3.645	.736	2.68
50-29	6.004	.202	1.21
55-12	Y-908	3.462	.340	1.18
55-7	Y-653	6.031	.099	.397
55-5	Y-208	1.864	.241	.449
55-26	Y-1172	4.578	.039	.179

* نمت خلايا الخميرة لغاية بدء الطور الثابت على 10% لاكتوز فضلا عن
المغذيات التكميلية (supplementary nutrients) في دوارق مرجوجة *

كما لاحظوا ان زيادة استخدام الشرش كوسط للنمو اعطى زيادة في كمية اللاكتينز الكلي مقدارها 30% وزيادة مقدارها 80% في نشاط اللاكتينز لكل ملغم خميرة مقارنة ببيئة اللاكتوز كما هو مبين في الجدول (2.3) . ولم تظهر فروقات كبيرة بين البيئة المبسترة Pasteurized والبيئة المحققة بالبخار Autoclaved .

سلالة الخميرة	خميرة لكل لتر بيئة	النشاط لكل ملغم وزن جاف	النتاج الكلي لكل لتر من البيئة
Growth medium	Yeast per liter of medium	Activity per mg dry weight	Total yield per liter of medium
	(g)	(lactose units)	(lactose units $\times 10^{-3}$)
(a) 15% lactose plus "supplementary nutrients," ^b autoclaved	3.82 \pm .17 (3) ^c	2.83 \pm .16 (3)	11.7 \pm .53 (3)
(b) Whey (15% lactose) plus "supplementary nutrients," pasteurized	3.03 \pm .18 (10)	5.13 \pm .47 (10)	15.3 \pm 1.3 (10)
(c) Whey (15% lactose) plus "supplementary nutrients," autoclaved	2.83	5.15	14.6
(d) Whey (15% lactose) plus "supplementary nutrients" centrifuged (pasteurized)	3.73 (2)	4.97 (2)	18.3 (2)
(e) Whey (15% lactose) plus "supplementary nutrients," except yeast extract (pasteurized)	3.31	4.95	16.4
(f) Whey (15% lactose) plus "supplementary nutrients," with .5% corn-steep liquor (CSL) added instead of yeast extract (pasteurized)			
CSL from American Maize Products Co.	3.16	5.01	15.8
CSL from Clinton Corn Processing Co.	2.80	4.78	13.4
CSL from Penick and Ford Ltd.	2.68	4.60	12.9
CSL from Scoby Manufacturing Co.	2.68	4.51	12.1

a نمت الخميرة K. fragilis UCD = 55-61 في دوارق مرجوحة .

b تضمنت المغذيات التذميرية : 0.3% K_2HPO_4 ، 0.5% مستخلص خميرة و 3% (بالحم) $5N-NH_4OH$.

c تشير الارقام بين الاقواس الى عدد مرات القياس للحصول على النتيجة وفي حالة عدم وجودها فان التقدير كان لمرة واحدة فحسب .

الفصل الخامس

تطبيقات الوراثة الجديدة

Applications of the New Genetics

1. مقدمة
2. التجمع الوراثي في صناعة التخمير
3. تضخيم أو تكبير الجين
4. DNA ذو التشكيلات الجينية المختلفة
5. التطبيقات الاخرى للتقنية الحيوية

1. مقدمة Introduction

ان الهدف الاول والثاني للمختص في الميكروبيولوجي الصناعي هو ايجاد كائن حي مجهري يكون انتاجه من المنتج المرغوب غير منتظم تماما . ويمكن ايجاد مثل هذه الاحياء بواسطة غريزة مجموعات المزارع الميكروبية أو العزلات المعزولة من الطبيعة . وحالما يتم اختيار الكائن الحي المجهري ذي المواصفات المرغوبة ، يقوم المختص بالميكروبيولوجي بتحديد احتياجات هذا الكائن الفيزيائية والتغذوية للوصول الى أفضل نمو وانتاجية . وعند هذه النقطة فان الميكانيكيات المنظمة المتضمنة : الحث ، وتنظيم التغذية الاستراتيجية ، وتنظيم مواد الايض الهديمتي ينبغي استثمارها أو تجنبها من خلال المعالجات التي تشمل التغذية والهندسة والوراثة . وبكلمة أخرى ينبغي تغيير تنظيم السلالة المختارة من الناحيتين البيئية والوراثية أو بكليتهما . وبعد هذه العملية من تغيير التنظيم . يمكن انتاج المنتج التقليدي للصناعة التخمرية بأسلوب اقتصادي .

وقد تم توضيح قيمة وفائدة الاحياء المجهريه بقوانين علم الميكروبيولوجي التطبيقي التي وضعها العالم Perlman في الثمانينات والتي تلخص في الاتي :-

- (1) تكون الاحياء المجهريه دائما على صواب وهي صديقة لنا وشريكة حساسة .
- (2) لا توجد احياء مجهريه حمقاء .
- (3) يمكن للاحياء المجهريه ان تعمل اي شيء .
- (4) تمد الاحياء المجهريه أكثر ذكاء وحكمة ونشاطا من الكيميائيين والمهندسين وغيرهم .

- (5) اذا امكنا الناية باصدقائنا من الاحياء المجهريه ورايتها فانها بدورها ستفنتي بمستقبلنا وترعاه .

واخيرا ، فان التطورات الجذرية في الوراثة الجزيئية تقود بدفع حقل الميكروبيولوجي الصناعي الى طور نمو جديد مع تعهد بعلم مضلات المسالم الرهسة .

2. التجمع الوراثي في صناعة التخمر

Recombination in the fermentation Industry

يمكن للاحياء المجهريه ان تولد صفات وراثية بوسيلتين هما :

التطفر Mutation والتجمع الوراثي الجنسي Sexual Recombination .
 ففي حالة الطفرات ، يتم تحويل جين ما أما بطريقة غير متمممة (طفرة تلقائية
 Spontaneous mutation) أو بطريقة متمممة (طفرة محدثة صناعيا
 Induced mutation) . وعلى الرغم من كون التغير ضارا بصورة دائمة
 ، يتخلص منه بواسطة الانتخاب ، غير أن بعض الطفرات تكون مفيدة للكائن الحي
 المجهري . كما تعد بعض الطفرات الضارة ذات فائدة للميكروبيولوجيين الصناعيين
 الذين يتمرفون على الطفرة بواسطة الغزلة ومن ثم حفظها لفترة غير محدودة .
 ولم تساهم ظاهرة التجمع الوراثي Genetic recombination بشكل جوهري
 في الميكروبيولوجي الصناعي بسبب ندرة حدوث التجمع الوراثي في الاحياء المجهريه
 الصناعية . وعلى سبيل المثال عادة ما يكون تكرار حدوث تجمع الصفات الوراثية
 في الستربتوميسيتات streptomycetes محدود 10-6 أو أقل .

إن احياء التخمر مثل الاكتينومييسيتات actinomycetes التي تم تجاهلها
 لسنوات عديدة في الدراسات الوراثية الاساسية قد دخلت في الالوة الاخيرة تحت
 الفحص الدقيق . وقد عملت الكثير من الدراسات حول الاسلوب الجديد لاندماج
 البروتوبلاست الذي يتوسطه البولي اثيلين جلايكول ، والذي يزيد من تكرار
 حدوث تجمع الصفات الوراثية (لفاية 10-2 الى 10-1 في الستربتومييسيتات) وييسط
 من اتساع التجمع الوراثي وبالتالي تشجيع الصناعة لتخصيص وقت أكثر للطريقة
 الثانية المتعلقة بزيادة التنوع الوراثي .

وقد استخدم اندماج البروتوبلاست Protoplast fusion لأول مرة مع
 الخلايا الحيوانية والخلايا النباتية وفيما بعد مع الفطريات والبكتريا الوحيدة
 الخلية ، وأخيرا مع الاكتينومييسيتات . وبالرغم من عدم امكانية الحصول على
 الافراد ذوات التشكيلات الجينية المختلفة Recombinants ثابتة وقابلة للحياة
 بواسطة اندماج أو امتزاج انواع غير متشابهة ، فإن اندماج البروتوبلاست البيولوجي
 الناجح وكذلك التجمع الوراثي قد تم انجسازه بين *Penicillium chrysogenum*
 و *P. cyaneo-fulvum* وكذلك بين *Aspergillus nidulans*

A. rugulosus ، وبين أنواع مختلفة من الستربتومييسيتات وحتى بين أجناس
 الخمائر مثل *Candida* و *Endomycopsis* .

وقد يزداد هذا الاتساع لمجال التجمع الوراثي الى مدى أبعد بواسطة ما تم التوصل اليه حديثا من أن تمرير بروتوبلاست الـ *Streptomyces* للاشعة فوق البنفسجية قبل الاندماج يدعم اختياريا تجديد الافراد ذات التشكيلات الجينية المختلفة ، كما يمكنها زيادة تكرارية حدوث التجمع الوراثي بعد الاندماج بحوالي عشرة أضعاف .

ويعرض اندماج البروتوبلاست فرصة لتحسين السلالات الصناعية التي غالبا ما تتراكم فيها اضرار أثناء خطوات التطفر *mutagensis* في برامج تحسين السلالة . وقد يحدث تجمع وراثي ضمن النوع الواحد لمثل هذه السلالات الضعيفة مع سلالات نشيطة ضعيفة الانتاج ، ومنه ، الافراد ذات التشكيلات الجينية المختلفة والتي تعطى نوعا من الثبات قد يـ تخاب سلالة قوية مفرطة في الانتاج . وقد اوضحت الدراسات على سلالات *Cephalosporium acremonium* نجاحا في استعمال ظاهرة التجمع الوراثي أثناء تحسين السلالة .

ويمكن استخدام ظاهرة التجمع الوراثي باستراتيجية أخرى في برامج تحسين السلالة . اذ بدلا من انتخاب أفضل كائن حي منتج فحسب من بين الكائنات الباقية على قيد الحياة بعد المعاملة التطفرية واحمال الكائنات المنتجة المعسنة الاخرى ، فان الطفرات التي تزيد من الانتاج يمكنها أن تتجمع وراثيا للحصول على كائن منتج متفوق بدون اي تطفر إضافي . وقد أثبت ذلك حديثا مع *Nocardia lactamdurans* اذ تم دمج سلالتين محسنتين منتجتان للسيفاميسين Cephamicin ، ومن بين الافراد ذات التشكيلات الجينية المختلفة كانت هناك مزارع تنتج المضاد الحيوي بنسبة قد تصل الى 10-15% أعلى من النسبة التي تنتجها أفضل الخلايا الابوية .

ويمكن ان تنتج مضادات حيوية جديدة من اندماج كائنين ينتجان مضادات حيوية مختلفة أو حتى نفس المضادات الحيوية . فاندماج نوعين من الـ *Streptomyces* يعطى افرادا ذات تشكيلات جينية مختلفة تنتج المضاد الحيوي انثراسيكلين Anthracyclin الجديد . وفي الاونة الاخيرة تم الحصول على ثلاثة ريناميسينات Rifamycins جديدة لم تشاهد سابقا في برامج التطفر من اندماج أنساب متباعدة

غير المكون للطفرات من برنامج تطوير سلالة انتاج المضاد الحيوي ريفاميسين *

3. تضخيم أو تكبير الجين Gene Amplification

تعد البلازميدات plasmids قطعاً من الـ DNA الكروموسومي الاضافي وتحمل ما بين 2-250 جينا يمكن ان تتواجد بشكل مستقل في سايتوبلازم الخلية أو ان تندمج في الكروموسوم . وعندما تكون البلازميدات موجودة في الحالة المستقلة فانها عادة تتولد بمعدل مماثل أو أعلى قليلا من المعدل الذي تتولد به الكروموسومات . وبالرغم من أن البلازميدات تتواجد اعتياديا بمعدل 1-30 نسخة لكل خلية ، فانها قد تجبر كي تتولد بدرجة اسرع من الـ DNA الكروموسومي ، منتجة أكثر من 3000 نسخة من الجين البلازميدي لكل خلية . وقد استثمر هذا التكنيك الخاص بتضخيم الجين بكثرة في البكتريا مثل *Escherichia coli* . وأصبح من الممكن الان نقل اي جين كروموسومي (أو مجموعة من الجينات) في *E. coli* الى البلازميد لتضخيم الجين وبالتالي زيادة الجرعة الجينية وتكوين الانزيمات الى مستويات عالية جدا . ويمكن نقل بلازميد بكتيريا *Bacillus* من خلية الى أخرى بواسطة ظاهرة التحول Transformation في وجود بولي ايثيلين جلايكول . كما يمكن نقل بلازميدات معينة من بكتيريا *Pseudomonas* (تدمي المختلطة أو غير المتجانسة Promiscuous) الى أجناس أخرى سالبة للجرام مثل *Escherichia* و *Salmonella* ، *Klebsiella* و *Rhizobium* ، *Agrobacterium* ، *Acinetobacter* و *Proteus* . وفي الواقع تستطيع هذه البلازميدات ادخال عملية جنسية الى بكتريا لم يسبق ان كان لها نظام تجمع وراثي عام وجينات كروموسومية متحركة ، وتمتد مفيدة جدا في الخارطة الوراثية . ويمكن ان تتحول البلازميدات من بكتيريا *Staphylococcus aureus* الى خلايا بكتيريا *Bacillus subtilis* حيث تتكرر أو تتضاعف وتعبئ عن نفسها لتصبح طبق الاصل . وحتى الكائنات الحية حقيقية النواة Eucaryotes مثل الخميرة تحتوي على ما يقارب 50 جزيئة بلازميدية لكل خلية .

ولقد تم كشف DNA بلازميدي في جميع الانواع المنتجة للمضادات الحيوية

وجود انه يحتوي أما على جينات تركيبية structural genes أو على جينات تنظم التعبير عن الجينات التركيبية المائدة للتخليق الحيوي للمضادات الحيوية . وكذلك يمكن استخدام الفيروسات البكتيرية في نقل الجين وتخصيصه . ان النجاح الذي تحقق مع البلاسميدات أو الفاج Phage يمكن أن يخفف بشكل ملحوظ من كلفة المضادات الحيوية فضلا عن كلفة تطوير مضاد حيوي جديد .

ان العمليات الجديدة لانتاج الاحماض الامينية والنيوكليوتيدات والفيتامينات يمكن أن تنشأ من تقنية تضخيم الجين . كما أن العديد من الانزيمات المنظمة لشفرة الجينات التركيبية والخاصة بالتخليق الحيوي للمواد الايضية الاولى تكون متجمعة على كروموسومات البكتيريا . وان نقل هذه الاوپرونات Operons الى الـ DNA البلاسميدي أو الى الفاج ، والتي يتبعها عملية تضخيم ، يمكنها اعطام عمليات جديدة مؤثرة . ومن أحد الامثلة هو استخدام ظاهرة التحول المنقول أو الماهر Transduction في الفاج أو ما يسمى lambda-transducing phage

حيث يتم فيه دمج اوبيرون التريبتوفان (trp-operon) المائد الى E.coli الموجود عادة على الكروموسوم . وينتج عن تضخيم الفاج الافراط في انتاج انزيمات التخليق الحيوي للتريبتوفان الى درجة معينة بحيث تشكل 50% من البروتين الذائب للخلية . والامثلة الاخرى على تضخيم جينات trp-operon قد أجريت من خلال تضخيم البلاسميد . والمحاولات جارية أيضا لتطوير عمليات لانتاج البرولين والبيوتين والرايبوفلافين من بين غيرها من المركبات . ففي الصناعة التخمرية ، يمكن انتاج بعض الانزيمات مثل جلوكونز ايسومريز بشكل أكثر فاعلية بواسطة تضخيم البلاسميد . ويمكن ان يفضي تضخيم الجين المستول عن شفرة انزيم بنسلين اسيلاز Pencillin acylase ، وهو عبارة عن ناتج من بكتريا E.coli المستخدم في تكوين بنسيلينات شبه مخلقة ، الى عملية اقتصادية كبيرة جدا فيما يتعلق بهذا الانزيم المهم .

4. DNA ذو التشكيلات الجينية المختلفة Recombinant DNA

ان من أكثر الانجازات الملمنة من تقنية الـ DNA ذي التشكيلات الجينية المختلفة (الـ DNA الجديد) سيكون له أثر عظيم في الميكروبيولوجي الصناعي

خلال العقد الثامن من القرن الحالي • وقد ظاهرت إعادة تجمع الصفات الوراثية بطريقة تزيادة تنوع أو اختلاف الأحياء المجهرية ، فهي تجتذب مما المعلومات الوراثية لتكوين اتحادات أو تراكيب ثابتة جديدة وبالتالي نشوء تركيب جيني أو وراثي genotype جديد • وفي الطبيعة يحدث التجمع الوراثي بين الأحياء من نفس النوع أو من أنواع متقاربة جدا • ولجميع الأحياء أنزيمات تعرف باسم الـ restriction endonucleases وهذه الانزيمات تتميز إلى DNA الغريب وتهدمه بحيث لا يحدث ما يسمى « بالتجمع الوراثي الشاذ » (illegitimate recombination) •

وقد اكتشف في عام 1973 أنه بالإمكان :

(1) استخدام الانزيمات القيدية restricted enzymes لقطع جزيئات DNA •

(2) استخدام انزيم آخر (DNA لايجيز) لربط قطع الـ DNA •

(3) إعادة ادخال الـ DNA ذي التشكيلات الجينية المختلفة إلى E.coli مع استخدام البلاسميد كموجه أو ناقل Vector •

وتضمنت التجارب المبداية التجمع الوراثي لبلاسميدين مختلفين وجدا في بكتريا E.coli • وبعد ذلك بوقت قصير تم أحداث تجمع وراثي للجينات البلاسميدية من أنواع بكتيرية غير متقاربة وذلك في انبوبة اختبار • وقد اثبت في عام 1976 أن جزءا من DNA الصميرة ، وهي من الأحياء الحقيقية النواة procaryote ، يمكن أن يعبر عن نفسه ويصبح نسخة طبق الاصل عندما يدخل في كروموسوم البكتريا وهي من الأحياء البدائية النواة eucaryote • وفي نفس السنة تم زرع جين جلوبيين الارنب في E.coli بواسطة مجاميع ممتدة من الباحثين • وفي عام 1977 تم زرع جين انسولين الفار وتم تحقيق التعبير عن DNA هرمون نمو الفار وكذلك DNA سوماتوستاتين الانسان (human somatostatin DNA) • كما أن إنتاج اوفالبيومين الدجاج وانسولين الفار في بكتريا E.coli تم اثباته في عام 1978 • وأنتج في عام 1979 هرمون نمو الانسان وانسولين الانسان • ويستخدم هرمون نمو الانسان في معالجة القزامة dwarfism في الأطفال ، ويصل انتاجه بواسطة تقنية DNA ذي التشكيلات

الجينية المختلفة الى حوالي 20 ملغم/لتر الذي يكافئ 1% من البروتين الذائب لسلاطة *E.coli* سبق هندستها أو توجيهها وراثيا ، أو 100000 جزيئة/خلية . ويتشابه الناتج في التركيب والنقاوة والفعالية مع مادة الفضة النخامية . وبالرغم من أن الانسولين يشكل ما يقارب 140 مليون دولار سنويا من المبيعات في الولايات المتحدة لوحدها الا أنه اليوم لا يوجد مصدر تجاري للانسولين البشري . فالمصابون بمرض السكري *diabetics* غالبا ما يتعاملون انسولين الخنازير أو المواشي . ولا يعتمد تجهيز الانسولين على تيسر الغدد الحيوانية فحسب والذي يتحصل عليه من المجازر ولكن هناك مريض واحد في الاقل من بين 20 مريضا يكون حساسا للانسولين الحيواني . وقد جرت محاولات لانتاج انسولين بشري خلال عامي 1982-1983 من سلاطة *E.coli* مهندسة وراثيا .

وفي عام 1980 تم توضيح عملية انتاج بروتين الانترفيرون البشري *human interferon protein* بواسطة *E.coli* من خلال تقنية *DNA* ذي التشكيلات الجينية المختلفة . ان الاحياء الراقية تنتج الانترفيرون اعتياديا وبكميات ضئيلة استجابة للاصابة الفيروسية . تنعكس ندرة هذا البروتين في سعره ، فقد دفعت جمعية السرطان الامريكية في عام 1978 حوالي مليوني دولار ثمنا لـ 50 مليونراما من الانترفيرون المنتج من جمع الدم في فنلندا . ان مثل هذا السعر المانع قد حدد بشدة اختبار قابليته وكفاءته في معالجة الامراض الفيروسية والحالات المختلفة من السرطان . وينبغي أن يكون الانترفيرون في القريب متيسرا بسعر اوطا كثيرا لاجراض البحث الطبي والتقييم .

وعلى الرغم من حقيقة افتقار الانترفيرون الى كربوهيدرات المادة الطبيعية ، يعد الانترفيرون المهندس وراثيا نشطا من الناحية البيولوجية اذ يقاوم بشدة الاصابة الفيروسية في القروء رغم ان درجة فعاليته لم تذكر بعد في الابحاث .

وبالتاكيد سيكون انتاج اللقاح (فاكسين *Vaccine*) حصيلة التقنية الجديدة . ويمكن تخليق مستضدات البروتين *protein antigens* هذه بواسطة الزرع واعطاء الشفرة للجينات المعبرة من أجل البروتينات السطحية للفيروسات والبكتريا والطفيليات . والتقدم الجاري حاليا هو نحو تطوير لقاحات التهاب الكبد (hepatitis B) والانفلونزا وكذلك في المجال الزراعي ، كما ان اللقاحات

لامراض القدم والقم وميضه الخنازير hog cholera ستؤدي زيادات في الانتاجية الحيوانية . وتتضمن المنتجات المستقبلية المهمة وذات الفائدة الكبيرة للميكروبات المهندسة (الموجهة) engineered microbes : تحرير ، وانزيم يوروكينيز urokinase ، والكازينورين المعجل ، والانزيمات المشتركة في تنشئ السم والنظام المناعي Complement system والبيئات الفعالة او نواتج الجيسن (البروتينات) لعلاج الامراض الوراثية مثل الناعور hemophilia (الهيموفيليا هي نزف الدم الوراثي) .

وينبغي على تنقية DNA ذي التشكيلات الجينية المختلفة ان تنتج بروتينات تديية mammalian proteins أكثر نقاوة بالمقارنة مع التقنيات الاخرى . وعلى سبيل المثال ، فانها تتجنب المشاكل الاعتيادية للثلاث مع الهرمونات الببتيدية المتعددة ، واليوميون المصل وبروتينات المصل الاخرى وكذلك الفيروسات المصاحبة لزراعة النسيج وطرق استخلاص النسيج او الدم . كما يجب ان تكون اكثر اقتصادية من التخليق العضوي . ومع ذلك تبقى هناك حاجة ملحة لفصل النواتج عن المستحضرات الميكروبية والببتيدات المتعددة والسموم الداخلية .

ويمكن للـ DNA ذي التشكيلات الجينية المختلفة ان يقدم مساهمات الى نواتج التخمر التقليدية . وعلى سبيل المثال ان نقل الجينات المسؤلة عن شفرة اميليز الفطر Aspergillus ، او جلوكو اميليز الفطر Aspergillus ، او Rhizopus ، او جلوكوز ايسومريز الى Sterptomyces ، او رفين الى Mucor الى البكتريا النامية بسرعة يمكن ان يؤدي الى عمليات انزيمية اقتصادية . ويتضمن العمل الجاري في المراكز البحثية المختلفة نقل جينات - اميليز وجلوكو اميليز وجلوكوز ايسومريز الى كائن مستقل منتج للفركتوز ، وكذلك استخدام جينسات الاميليز والجلوكو اميليز الى خميرة Saccharomyces cerevisiae للساج بانتاج الكحول من النشا ، وكذلك استخدام الجينات المسؤلة عن تكوين الانزيمات التجارية الثابتة تجاه الحرارة واقصى حدود لك pH الى بعض البكتريا المعوية bacilli . ان حقل المضادات الحيوية والاوبيرونات المنتجة للمضادات الحيوية ينبغي ان يتحول من الستربتوميسينات او الفطريات البطيئة النمو الى البكتريا الحقيقية السريعة النمو (مثل E.coli و B.subtilis) لإعزاز نمو سريع وانتاج

مضادات حيوية أكثر قابلية على التكرار • تتلخص الميزات الأخرى للتقنية الجديدة في الآتي : -

- (1) امتصاص أكثر سرعة للمغذيات بسبب عظم أو كبر نسبة السطح إلى الحجم •
- (2) نقل أوكسجين أفضل نظرا لأن الأحياء الخيطية تنتج سوائل غير نيوتونية لزجة •

- (3) عملية خلط أو مزج أحسن وبالتالي سيطرة أكثر تعويلا على الـ pH وتركيزات الأوكسجين وثاني أوكسيد الكربون •
- (4) أفضل كائن حي من أجل عملية التطفر •

والإمكانية الأخرى هي نقل مثل هذه الأوبيرونات من إحدى الستربتوميسيتات إلى الأخرى على أن تكون الجينات التركيبية أكثر قدرة على التعبير عن نفسها في الأنواع الميكروبية الأخرى • وعلى سبيل المثال ، قد ينتج أمينوجلوكوسيد مكتشف حديثا عند مستويات واطئة جدا كأن تكون 10 ميكروغرام/مل ، وأن برنامج تحسين السلالة التقليدي قد يستغرق سنوات لزيادة الكمية المنتجة إلى وضع معقول من الناحية الاقتصادية إلا وهو 10 مليغرام/مل • لذلك فإن نقل الجينات التركيبية إلى مفرط في إنتاج المضاد الحيوي كاناميسين Kanamycin الذي يمتلك فعليا ميكانيكيات مقاومة للمضادات الحيوية الأمينوجلوكوسيدية ، قد يعطي زيادة كبيرة في الكمية المنتجة من المضاد الحيوي • وقد تبدو هذه الإمكانيات غير واقعية خاصة إذا كانت الجينات المسؤولة عن انزيم انتيبيوتك سينثيتيز قد انتشرت حول الغارلة الوراثية للاكتينوميسيت ، ولكن لحسن الحظ أنها لا تظهر على مثل هذا الحال • وقد أظهرت الدراسات في الآونة الأخيرة تجمع جينات التخليق الحيوي التركيبية للمضاد الحيوي اكتينورهودين actinorhodin وشبيه البرودييجوسين الأحمر

Streptomyces coelicolor في الكائن المجهرى red prodigiosine = Like

وكذلك للمضاد الحيوي أوكسي تتراسيكلين oxytetracyclin في S.rimosus

وأيضا للمضاد الحيوي ريفاميسين rifamycin في Nocardia mediterranei

وعليه يصبح من الممكن إدخال أوبيرونات التخليق الحيوي الكروموسومية من الاكتينوميسيتات في البلاسميدات أو الفاج ونقلها إلى E.coli أو أية اكتينوميسيتات أخرى • وتتطلب العملية الأخيرة طرائق تقنية وموجهات الاكتينوميسيتات التي يمكن

بواسطة ادخال ال DNA الهجين الى داخل خلايا الاكتينوميستات .

وفضلا عن استخدام التخليق العيوي الطفري واندماج البروتوبلاست لانتاج المضادات الحيوية ، فان طرق نقل البلاسميد وال DNA ذي التشكيلات الجينية المختلفة يمكن ان تستخدم لاستقدام الجينات المسؤولة عن شفرة انزيمات انتيبيوتك سينثيتيزات الى الاحياء المجهرية المنتجة للمضادات الحيوية الاخرى او الى السلالات غير المنتجة . وتشمل الامكانات الاخرى استقدام الجينات المسؤولة عن شفرة الانزيمات المحفزة لاضافة أو حذف وظائف كيميائية معينة وكذلك الانزيمات المحفزة لتكوين وربط سلاسل جانبية جديدة أو اجزاء جديدة (كالسكريات) .

ان لطرائق ال DNA ذي التشكيلات الجينية المختلفة أثرا كبيرا في انتاج البروتين في الوقت الحاضر . اذ تم تحسين حصيلة بروتين الخلية الواحدة Single Cell Protein من الميثانول بواسطة استقدام الجين المسئول عن انزيم جلوتامات ديهيدروجينيز الى الكائن الحي المجهري *Methylophilus methylotrophs* وهذا الانزيم ، على خلاف جلوتامين سينثيتيز ، لا يبذل شيئا من ادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) أثناء تمثيل الامونيا .

ونظرا لان التلوث والطاقة قد اصبحتا من اكثر المضلات خطورة وجدية ، عليه ستكون هناك حاجة ملحة لاحتلال العمليات الانزيمية محل المصطبات الكيميائية كما هو الحال في الانتاج الانزيمي لأكسيدات الالكين *alkene oxides* والفركتوز . كما توجد فرص لتطوير عمليات انزيمية جديدة بفرض هدم السليلوز والهيميسليلوز واللجنين الى سكريات ومواد كيميائية أخرى . وبالرغم من ان بحثا هدية جدية بالاعتبار قد اجريت عن انزيمات السليلوليزات والهيميسليلوليزات ، الا ان هناك حاجة لعمل اختراق حقيقي في حقل تهديم اللجنين . والذي يمكن تخيله هو انتاج الانزيمات المحللة لللجنين بواسطة طرائق ال DNA ذي التشكيلات الجينية المختلفة الذي يمكن ان يحل معضلة تحويل هذا البوليمر الواسع الانتشار والزجاج الى مصدر للمواد الكيميائية الاروماتية .

ومن اهم الاحياء المجهرية المفيدة للانتاج المستقبلي للوقود السائل والمساود الكيميائية من المصادر النباتية ، الكلوستريديا *clostridia* . والكلوستريديا

كمجموعة تكون قادرة على إنتاج الايثانول وسامض اللاكتيك وسامض الغليسك والاسيتون والبيوتانول . ونظرا لعدم تمكن معظم هذه السلالات من النمو على السليلوز أو الهيميسليلوز ، فمن المفيد والمتع أن تكون هناك مقدرة على نقل الجينات المسنولة عن شجرة انزيمات السليلوليز والهيميسليلوليز من *Clostridium thermocellum* على سبيل المثال الى كلوستريديات أخرى . ومن المعروف ان الهيميسليلولوز يتألف من وحدات البننوز ، لذلك من المناسب نقل صفة تمثيل البننوز بين الكلوستريديات . وتعرض درجة الحرارة العالية المثلى (65° الى 75° م) لبعض الكلوستريديات المحبة للحرارة العالية *thermophilic clostridia* فرصة لتخفيض كلفة تقطير الايثانول والمذيبات الاخرى وجعل هذه العمليات أكثر اقتصادية .

5. التطبيقات الاخرى للتقنية الحيوية

Other Applications of Biotechnology

قادت ظاهرة التجمع الوراثي في الاحياء الراقية الى تطور رئيسي في حقل علم المناعة Immunology . اذ قام الباحثان Kohler و Milstein في عام 1975 بدمج خلية سرطانية من جلد الفأر (ورم نقي أو لبي myeloma) مع خلية بيضاء منتجة للضد (جسم مضاد antibody) وحصلوا على خلية هجين (hybridoma) التي نمت في انبوبة اختبار واعطت مضادا نوعيا نقياً . ولم يسبق انتاج مثل هذه المضادات النقية (monoclonal) ، عندما كان الاعتماد على المخاليط غير النقية للمضادات المائدة لعمل الحيوان المنيع في توفير الحماية المناعية تجاه الامراض . وفي الوقت الحاضر تعد المضادات المعروفة باسم Monoclonal antibodies متيسرة تجاريا للابحاث والاستخدامات التشخيصية والعلاجية .

وقد درست تقنية الخلية بشكل واسع على أمل جعل المواد الايضية النباتية والحيوانية على نمط مماثل لذلك المستخدم في التخمر الصناعي . وقد عملت بعض المواد الايضية النباتية المسماة Plant idiolites بواسطة المزارع الخلوية النباتية وعدد من التحولات الحيوية ، بيد ان التقنية لم تصبح بعد معقولة من الناحية التجارية لذلك يتطلب الامر زيادة المعرفة الاساسية فيما يتعلق بالميكانيكيات المسنولة

عن اثاره الايض الثانوي في النباتات . فقد تم انتاج الانترفيرون البشري والبروتينات الشدوية الاخرى بواسطة المزارع الخلوية الحيوانية النامية على خريزات ميكروسكوبية (حوامل دقيقة microcarriers) . وتسمح مثل هذه المزارع بنمو المزارع الخلوية المعتمدة على وجود مواد تثبيت في مزرعة مغمورة وليس على السطوح الزجاجية لاطلاق بتري أو الزجاجات الاسطوانية . والمحاولات جارية الان لجعل مزارع الحامل الدقيق microcarrier cultures معقولة من الناحية التجارية .

والتقدم الزراعي الرئيس الذي يمكن الوصول اليه عن طريق علم الحياة الجديد هو استبدال الاسمدة التركيبية بواسطة طريقة محسنة لتثبيت النتروجين nitrogen fixation . ولم يلق الامل في ادخال الجينات المسؤولة عن تثبيت النتروجين في خلايا النباتات غير البقولية نجاحا كبيرا في هذا المجال ، بيد ان الامكانيات والاحتمالات الاخرى ما زالت قائمة . ومن المقترحات التي صادفت النجاح والتقدم هو انشاء علاقة تآزرية او تعاونية synergistic relation بين البكتريا المثبتة للنتروجين الحرة المعيشة وبين النباتات غير البقولية (مثل الذرة) . وفي هذه الطريقة تقوم سلالات من Azotobacter vinelandii المفردة للامونيا بتجهيز نتروجين مثبت الى النباتات ، في حين تقوم النباتات بتوفير الكربون الى البكتريا .

والمقترب الجديد الاخر في الحقل الصيدلاني هو استعمال مسود الايض الثانوي الميكروبية لمعالجة الامراض غير المسببة بواسطة البكتريا والفطريات الاخرى . فقد استخدمت لسنوات عديدة عقاقير رئيسة مثل عامل مفرط الضغط وعامل ضد الالتهاب في معالجة الامراض غير المعدية (غير الخمجية noninfectious) والتي تعد منتجات تخليقية على نحو تام . وبصورة مماثلة فان المواد العلاجية الرئيسية تجاه الامراض الطفيلية في الحيوانات (مثل موققات الكروبيات coccidiostats وطارادات الديدان antihelminthics) قد انتجت بواسطة هزيمة المركبات المختلفة كيميائيا ثم اعقبها عملية تحويل جزيئية . وعلى الرغم من اختبار الالف من المركبات ، فقد كشف النقب عن عدد قليل فحسب من التركيبات الموجودة التي ينتظر لها مستقبل كبير . ونظرا لسمية ايخلا مركبات

رائدة جديدة ، فان السوائل الميكروبية تقوم بملء هذا الفراغ . وبالفعل فنان منتجات الخمير مثل Monensin و Lasalocid تسود سوق موقفات الكرويات coccidiostat . وتمتلك الازيمستينك Avermectins وهي مجموعة اخرى من منتجات الستربتوميستين فعالية عالية تجاه الديدان (Helminths) والمفصليات (Arthropods) . وفي الحقيقة تبدو فعاليتها على درجة من القوة والمظم اكبر من تلك العوامل الطاردة للديدان المكتشفة سابقا ، وتمتد الغالبية المظمى منها مركبات مختلفة . وقد عزلت مجموعة الباحث Umezawa في اليابان عام 1972 نواتج ميكروبية عديدة لها فعاليات صيدلانية مهمة من طريق عمليات الفرزلة باستخدام طرق تحليل انزيمية بسيطة .

وهناك اهتمام جار فيما يتعلق بالاختبار السريري لـ BAYg 5421 (Acrabose) وهو مثبط طبيعي لانزيم الجلوكوسيديز المعوي الذي ينتج بواسطة أحد الاكتينوميستينات العائدة للجنس Actinoplanes . والفرض من ذلك هو خفض فرط سكرية الدم hyperglycemia وتخليق الجليسيريدات الثلاثية في الانسجة الشحمية والكبد والجدار المعوي للمرضى الذين يعانون من أمراض السكري Diabetes والمسمنة Obesity ونوع IV من فرط الشحمة Type IV hyperlipidemia . والمركب الطبيعي الاخر المثير للاهتمام هو ميفينولين Mevinolin الذي يعد منتوجا فطريا ويعمل كاملا خافض للكلستيرول في الحيوانات . وينتج الميفينولين بواسطة الفطر Aspergillus niger . ان الميفينولين في صورته الحامضية (حامض ميفينولينيك mevinolinic acid) يعد مثبطا تنافسيا فعالا تجاه 3 - هيدروكسي - 3 - ميثيل جلوتاتريل - كوانترين A ريداكين من الكبد .

مراجع الباب الرابع

- Alikhanian, S.I. (1962) - Induced mutagenesis in the selection of microorganisms. *Adv. Appl. Microbiol.*, 4, 1-50.
- Bhattacharjee, J.K. (1970) - Microorganisms as potential sources of food. *Adv. Appl. Microbiol.*, 13, 139-161.
- Bu' Lock, J.D. (1961) - Intermediary metabolism and antibiotic synthesis. *Adv. Appl. Microbiol.*, 3, 293-342.
- Bu'Lock, J.D. (1965 a)-The biosynthesis of natural products. McGraw-HillBook Co., London.
- Bu'Lock, J.D. (1965 b) - In'' Biogenesis of antibiotic substances,, (Z. Venck and Z. Hostalek, eds.) pp. 61-71. Academic Press, New York.
- Bu'Lock, J.D. (1975) - In'' The filamentous fungi'' (J.E.Smith and D.R.Berry, eds.). Vol.1, pp. 33-58. Edward Arnold, London.
- Calam, C. T. (1964) - The selection, improvement and preservation of microorganisms. *Prog. Ind. Microbiol.*, 5, 1-54.
- Demain, A.L. (1966) - Industrial fermentations and their relation to regulatory mechanisms. *Adv. Appl. Microbiol.*, 8, 1-27.
- Dmain, A.L. (1968) - *Progress. Ind. Microbiol.*, 8, 35.
- Demain, A.L.(1968) - *Lloydia*, 31, 395.
- Demain, A.L. (1972) - *J. Appl. Chem. and Biotech.*, 22, 345.
- Demain, A.L. (1973) - Mutation and the production of secondary metabolites. *Adv. Appl. Microbiol.*, 16, 177-202.

- Demain, A.L. (1974)-*Annals of the New York Academy of Sciences*, 235, 601.
- Demain, A.L. (1978)-Production of nucleosides by microorganisms. In "Economic microbiology, Vol.2, primary products of metabolism". (A.H.Rose, ed.) pp. 187-208. Academic Press, London.
- Demain, A.L. (1980) - *Search*, 11, 148.
- Demain, A.L. (1980 - Microbial production of primary metabolites. *Naturwissenschaften*, 67, 582-587.
- Demain, A.L. (1981) - *Industrial microbiology. Science*, 214, 987-995.
- Demain, A.L., Daniels, H.J., Schnable, L., and White, R.F. (1968) - *Nature*, London 220, 1324.
- Demain, A.L., and White, R.F. (1971) - *J. Bacteriol.*, 107, 456.
- Drake, J.W. (1969) - Mutagenic mechanisms. *Ann. Rev. Genetics*, 3, 247-268.
- Drake, J.W. (1970) - *Molecular basis of mutation*. Holden Day, San Francisco.
- Drews, S.W., and Demain, A.L. (1977) - *Ann. Rev. Microbiol.*, 31, 343.
- Elander, R.P., and Chang, L.T. (1979) - In "Microbial technology". (H.J. Peppler and D. Perlman, eds.) Academic Press, New York.
- Gordenough, U., and Levine, R.P. (1974) - *Genetics* Holt, Rinehart and Winston, Inc., New York.
- Hays, W. (1968) - *The genetic of bacteria and their viruses*, 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Kinoshita, S., and Nakayama, K. (1978) - Amino acids. In

- "Economic microbiology, Vol.2, Primary products of metabolism" (A.H.Rose, ed.) Academic Press, London.
- Kinoshita, S., Nakayama, K., and Kitada, S. (1968) - L - Lysine production using microbial auxotroph. *J.Gen. Appl. Microbiol.*, 4, 128-129.
- Kinoshita, S., Uda, S., and Shimono, M. (1957) - *J. Gen. Appl. Microbiol.* 3, 193.
- Kohler, G., and Milstein, C. (1975) - *Nature (London)*, 256, 495.
- Konigsberger, V.V., and Bosch, L. (1967) - Regulation of nucleic acid and protein biosynthesis. Elsevier, Amsterdam.
- Lederberg, J., and Lederberg, E.M. (1952) - Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. *J.Bacteriol.*, 63, 399-406.
- Legator, M.S., and Flamen, W.G. (1973) - Environmental mutagenesis and repair. *Ann. Rev. Biochem.*, 42, 683-708.
- MacDonald, K.D. (1976) - Second international symposium on the genetic of industrial microorganisms. Academic Press, New York.
- Mahoney, R.R., Nikerson, T.A., and Whitaker, J.R. (1975) - Selection of strain, growth conditions, and extraction procedures for optimum production of Lactose from *Kluyveromyces fragilis*. *J.Dairy Sci.*, 58, 1620-1629.
- Margalith, P. (1964) - Secondary factors in fermentation processes. *Adv.Appl. Microbiol.*, 6 69-90.
- Martin, J.F., and Demain, A.L. (1980) - *Microbiol. Rev.*, 44, 230.

- Miller, B.M., and Litsky, W. (1976) - Industrial microbiology. McGraw-Hill Book Co., New York.
- Orgel, L.E. (1965)-The chemical [←]basis for mutation. Adv. Enzymol., 27, 289-346.
- Peppler, H.J., and Perlman, D. (1979) - Microbial technology, 2nd ed. Vol. 1. Microbial processes. Academic Press, London.
- Peppler, H.J., and Perlman, D. (1979) - Microbial technology, 2nd ed. Vol. 2. Fermentation technology. Academic Press, London.
- Perlman, D. (1978) - Vitamins. In "Economic microbiology, Vol. 2, Primary products of metabolism". (A.H. Rose, ed.) pp. 303-326. Academic press, London.
- Perlman, D. (1980) - Dev. Ind. Microbiol., 21, XV.
- Perlman, D., and Peruzzotti, P. (1970) - Microbial metabolites as potentially useful pharmacological active agents. Adv. Appl. Microbiol., 12, 277-294.
- Rhodes, A., and Fletcher, D.L. (1966) - Principles of industrial microbiology, 1st ed. Pergamon Press Oxford.
- Rose, A.H. (1976) - Chemical microbiology: an introduction to microbial physiology, 3rd ed. Butterworths, London.
- Rose, A.H. (1978) - Economic microbiology, Vol. 2. Primary products of metabolism. Academic press, London.
- Rose, A.H. (1979) - Economic microbiology, Vol. 4. Microbial biomass. Academic press, London.
- Rose, A.H. (1980) - Economic microbiology, Vol. 5. microbial enzymes and bioconversions. Academic press, London.

- Shu, P., and Johnson, M.J. (1948) - J. Bacteriol., 56, 577.
- Stanier, R.Y., Adelberg, E.A., and Ingraham, J. (1976) - The microbial world. Prentice - Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.
- Susman, M. (1970) - General bacterial genetics. Ann.Rev.Gene-tics, 4, 135-176.
- Taylor, M.J., and Richardson, T. (1979) - Applications of mi-crobal enzyme in food systems and in biotechnology. Adv. Appl. Microbiol., 25, 7-36.
- Thoma, R.W. (1977) - Industrial microbiology. Dowden, Hutchinson & Ross, Inc., Stroudsburg, Pennsylvania.
- Umezawa, H. (1972) - Enzyme inhibitors of microbial origin. University Park Press, Baltimore.
- Vanck, Z., Hotalek, Z., and Cudlin, J. (1973) - Genetics of industrial microorganisms. Elsevier, Emsterdam.
- Wingard, L.B. Jr., Katchalski Katzir, E., and Goldstein, L. (1976) - Applied biochemistry and bioengineering, Vol.1. Immobilized enzymes principles. Academic Press, London.
- Wingard, L.B.Jr., Katchalski Katzir, E., and Goldstein, Vol.2.Enzyme technology. Academic Press, London.
- Witkin, E.M. (1969) - Ultraviolet - induced mutation and DNA repair. Ann. Rev. Genetics, 3, 525-552.

★ ★ ★

معجم المصطلحات العلمية

A

Absorbance	أمتصاص ضوئي
Absorptivity	أمتصاصية
Acceptor	مستقبل
Acetaldehyde	استيالدهيد
Acetate	استيات ، خلاات
Acetic acid	حامض الخليك
Acetic acid bacteria	بكتريا حامض الخليك
Acetoacetic acid	حامض / أسيتوأسيتيك
Acetoacetyl-Co A	أسيتوأسيتيك كوأ
Acetobacter	أسيتو باكتر
Acetoin	أسيتوين
Acetone	اسيتون
Acetone-butanol fermentation	تخمير الاسيتون البيوتانول
Acetyl-Co A	أسيتيل كوأ
Acetylmethylcarbinol	أسيتيل مثيل كرينول
Acid	حامض
Acidity	حموضة
Acidulants	مواد تخميض (محمضات)
Aconitase	اكونيتيز
Aconitate	أكونيتات
Aconitic acid	حامض اكونيتيك

Actidione	أكريدين
Actinobion	اكتينوهودين
Activated sludge	الوحل المنشط
Activation	تنشيط
Activators	منشطات
Active sites	المواقع النشطة او الفعالة
Acyl - Co A	أسيل كوا
Adaptation	اقلمة ، تطبيع
Adaptive enzyme	انزيمات تطبية
Adenine	أدينين
Adenosine diphosphaet (ADP)	أدينين ثنائي الفوسفات
Adenosine monophosphate (AMP)	ادينوسين احادي الفوسفات
Adenosine triphosphate (ATP)	أدينوسين ثلاثي الفوسفات
Adenylic acid	حامض ادينيليك
Adsorbent	مادة ماصة
Adsorption chromatography	التحليل الكروماتوجرافي بالامتزاز
Aerated fermentor	خممر مهوى
Aeration	تهوية
Aerobic	هوائي
Agar	اجار
Agar slant	اجار مائل
Agar stab	اجار عميق
Agitated fermentor	خممر مرجوح
Agitation	رج ، تقليب
Air sparger	مرشة هواء
Alanine	الانين
Alcohol	كحول

Alcohol dehydrogenase	كحول ديهيدروجينيز
Alcoholic beverages	مشروبات كحولية
Alcoholic fermentations	تخميرات كحولية
Alcoholometer	مكثاف (مقياس) الكحول
Aldehydes	الدهيدات
Aldolase	الدوليز
Algae	طحالب
Alginate	الجيلينات
Alkali	قلوي
Alkaloids	قلويدات
Alkylating agents	عوامل الكلة
Allosteric inhibitor	مثبط آلوسيري
Amino acids	احماض امينية
Aminocyclase	أمينو سيكليز
Aminopeptidase	أمينو بيبتيديز
Ammonia	أمونيا
Ammonium salts	املاح الامونيوم
Amphibolic pathway	مسار الايض المزدوج
Amylases	اميليزات
Amyloglucosidase	اميلوجلوكوسيديز
Amylopectin	اميلوبكتين
Amylose	أميلوز
Anabolism	أيض بنائي
Anabolites	مواد الايض التباي
anaerobic	لاهوائي
Anaerobic fermentation	تخمير لاهوائي
Anaerobic glycolysis	تحلل جلايكولي لاهوائي
Anaerobic metabolism	ايض لاهوائي

Anaplerotic reactions	تعايش لاهوائي
Anthra cyclin	تفاعلات ماثلة
Anion exchanger	انتر اسيكلين
Antibiotics	مبادل انيوني
Antibody	مضادات حيوية
Antifoam agents	ضدّ (جسم مضاد)
Antigens	مضادات الرغوة
antihelminthics	مستضدات
Antioxidants	طارادات الديدان
Apiculate	مضادات الاكسدة
Aplanospores	ذات شكل ليموني (مدببة الطرف)
Arabinose	سبورات غير متحركة
Arginine	ارابينوز
Aquatic fungi	ارجينين
Arthrospores	فطريات مائية
Ascocarp	سبورات مفصلية
Ascorbic acid	ثمرة كيسية
Ascospores	حامض الاسكوريك
Ascus	سبورات كيسية (زقية)
Asepsis	كيس (زق)
Aseptic techniques	طهارة
Asparagine	طرق مطهرة (طاهرة)
Aspartic acid	اسباراجين
Assay	حامض الاسبارتيك
Assimilation	تحليل
Atomizer	تمثيل
aureomycin	مرذاة ، مجزئي
	اوريوميسين

Autoclave	أوتوكلاف
Autolysis	تحلل ذاتي
Autotrophic microbes	ميكروبات ذاتية التغذية
Autotrophs	ذاتيات التغذية
Auxotrophic microbes	ميكروبات ذات قدرة تخليقية ناقصة
Auxotrophic mutants	طفرات ذات قدرة تخليقية ناقصة
Auxotrophs	أحياء ذات قدرة تخليقية ناقصة
Avermectins	أفرميسينات

B

Bacilli	عصويات (بكتريا عصبية)
Bacitracin	باستراسين
Back mutation	تطفّر رجعي
Bacteria	بكتريا
Bacterial enzymes	انزيمات بكتيرية
Bacterial mutation	طفرة بكتيرية
Bactericide	مبيد البكتريا
Bacteriostatic	موقف نمو البكتريا
Baffles	مصدات (مانعات التدّاخل)
Baker's yeast	خميرة الخباز
Balling hydrometer	هيدروميتر (مكثاف) بالنّج
Ballistospores	سبورات بالستية
Basidiospores	سبورات بازيدية
Basidium	بازيدة
Batch culture	مزرعة الوجبة (الدفعة) الواحدة
Batch fermentation	تخمّر الوجبة (الدفعة) الواحدة
Bed volume	حجم طبقة المادة المائلة
Beer	بيير

Beer's law	قانون بير
Beet molasses	مولاس البنجر
Benzoquinone	بنزوكينون
Benzyl penicillin	بنزيل بنسلين
β -galactosidaase	β — جالاكتوسيداز
β -galactosides	β — جالاكتوسيد
Bidirectional mutagenesis	تطفّر ثنائي الاتجاه
Biliproteins	بيليروتينات
Binaray fission	انشطار ثنائي
Binding agent	مادة رابطة
Biochemical changes	تغيرات كيموحيوية
Biochemical mutations	طفرات كيموحيوية
Biochemical oxygen demand (BOD)	الاحتياج للاوكسجين الكيموحيوي
Biochemistry	كيمياء حيوية
Bioconversions	تحولات حيوية
Biological assays	طرق التحليل البيولوجية
Biological systesm	نظام بيولوجي
Biological waste treatment	معاملة المخلفات بيولوجياً
Biosynthesis	تخليق حيوي
Biotechnology	تقنية حيوية
Biotin	بيوتين
Bisexual	ثنائي الجنس
Bisulfite	بيكريتيت
Blendor	خلّاط
Blue-green algae	الطحالب الخضراء الزرق
Boiler	مرجل بخاري
Bottom fermenting yeast	خميرة التخمر القاعي
Brewer's yeast	خميرة البيرة
Brewing	صناعة البيرة
Brix values	قيم بركس

Broth	مرق
Brown sulfur bacteria	بكتريا الكبريت البنية
Bud fission	انشطار البرعم
Budding	تبرعم
Buffer	بفر (منظم)
2,3 - Butanediol	3,2 — بيوتاندايول
2,3-Butylene glycol	3,2 — بيوتيلين جلايكول
n-Butanol	n — بيوتانول
Butyric acid	حامض البيوتيريك
Butyric acid bacteria	بكتريا حامض البيوتيريك
By-products.	نواتج ثانوية

C

Cadaverine	كادافيرين
Calcium	كالسيوم
Calcium gluconate	جلوكونات الكالسيوم
Cane molasses	مولاس القصب
Capsule	غلاف لزج
Carbohydases	كربوهيدرازات
Carbohydrate fermentation	تخمير الكربوهيدرات
Carbohydrate	كربوهيدرات
Carbon	كربون
Carbon cycle	دورة الكربون
Carboxylase	كربوكسيليز
Carboxylation	اضافة الكربوكسيل
β -Carotene	β — كاروتين
Carriers	حوامل
Carotenoids	كاروتينويدات

Catabolic pathways	مسارات الأيض الهدمي
Catabolism	الأيض الهدمي
Catabolite repression	كبح مواد الأيض الهدمي
Catabolites	مواد الأيض الهدمي
Catalase	كتاليز
Catalysts	حوافز
Cathode rays	اشعة الكاثود
Cation exchanger	مبادل كاتيوني
Cellulase	سليوليز
Cellulose	سليولوز
Cell count	عد الخلايا
Cell division	انقسام الخلية (انشطار الخلية)
Cell membrane	غشاء الخلية
Cell wall	جدار الخلية
Centrifugal force	قوة نابذة أو طاردة
Centrosome	كرية مركزية
Cephalosporins	سيفالوسبورين
Cepharmycin	سيفاميسين
Cereal	حبوب غلال
Cereal products	منتجات الحبوب
Characteristics	سمات ، صفات
Cheese	جبنة
Chemical intermediates	مواد وسطية كيميائية
Chemically defined medium	بيئة معرفة كيميائياً
Chemical oxygen demand (COD)	الاحتياج للأوكسجين الكيميائي
Chemotherapeutic agents	عوامل العلاج الكيميائي
Chemotherapy	المعالجة (المداواة) الكيميائية
Chill-haze	عكارة التبريد
Chlamydospores	سبورات كلاميدية
Chloroamines	كلورو أمينات

Chloroamphenicol	كلورو امفينيكول
Chloride	كلوريد
Chlorination	كلورة (اضافة الكلور)
Chloroform	كلوروفورم
Chloromycetin	كلوروميستين
Chlorophyll	كلوروفيل
Chloroplast	كلوروبلاست
Chlorotetracycline	كلوروتتراسيكلين
Cholesterol	كوليستيرول
Chromatography	التحليل الكروماتوجرافي
Chrysolaminarin	كريسولامينارين
Cis-aconitic acid	حامض ميس - اكونيتيك
Citrate synthase	سترات سينثيز
Citric acid	حامض الستريك
Citric acid cycle	دورة حامض الستريك
Class	صف
Classification	تقسيم ، تصنيف
Cleanliness	نظافة
Clostridia	كلوستريديات
Coagulation	تخثر
Cobalt	كوبلت
Cobamide	كوباميد
Coccarboxylase	كوكربوكسيليز
Cocci	كرويات
Coccidiostats	موقفات الكرويات
Coenzyme A	كوانزيم أ
Coenzyme Q (ubiquinone)	كوانزيم كيو (يوبيكينون)
Coenzymes	مرافقات انزيمية
Coliform bacteria	بكتريا القولون
Collumella	عوميد

Colorimeter	جهاز تحليل اللون
Commensals	مؤاكلات
Complement system	نظام متمم
Conidia	كونيديات
Conidiophore	حامل كونيدي
Conjugation	اقتران (التحام)
Constitutive enzymes	انزيمات تكوينية
Constitutive genes	جينات تكوينية
Contamination	تلوث
Continuous fermentations	تخميرات مستمرة
Control of fermentation	السيطرة على التخمر
Cooling coils	ملفات تبريد
Cooling system	نظام تبريد
Copper	نحاس
Corn	ذرة
Corn steep liquor	محلول نقيع الذرة
Cottonseed meal	مسحوق بذرة القطن
Counter current distribution	توزيع التيار المضاد (او المعاكس)
Creatine	كرياتين
Creatine phosphate	فوسفات الكرياتين
Crude medium	بيئة خام
Cultivation of microorganisms	حصاد (جمع) الاحياء المجهرية
Cultural characteristics	صفات مزربية
Culture	مزرعة
Culture collections	مجموعات المزارع
Culture medium	بيئة الزرع
Culture preservation	حفظ المزرعة
Culture studies	دراسات مزربية
Culture vessel	وعاء المزرعة
Cyanocobal amine (Vit.B ₁₂)	سيانوكوبال أمين

Cyanophycean starch
L - cysteine
L - cystine
Cytidine
Cytochromes
Cytoplasmic membrane
Cytosine

نشاسيانوفايكين
L — سستايين
L — سستين
سايتدين
سايتوكرومات
نشاء سايتوبلازمي
سايتوسين

D

Dairy products
Deamination
Death phase
Decarboxylase
Decarboxylation
Defined medium
Diffusion assay
Dehydration
Dehydrogenase
Denaturation
Density
Deoxyribonuclease
Deoxyribonucleic acid (DNA)
Deoxyribose
Derepression
Detection
Detector
Detergents
Deterioration

منتجات الالبان
ازالة الأمين
طور الموت
دي كربوكسيلايز
ازالة الكربوكسيل
بيئة معرفة
التحليل بانتشار
تجفيف
ديهيدروجينيز
تغير الطبيعة
كثافة
ديوكسي رايبونوكليز
حامض ديوكسي رايبونوكليك
ديوكسي رايبوز
ازالة الكبح او القمع
كشف
مكتشف
منظفات
فساد ، تدهور

Dextran	ديكستران
Dextrin	ديكسترين
Diabetics	مرض السكري
Diacetyl	ثنائي الاسيتيل
Diaminopimelic acid (DAP)	حامض ثنائي امينوبيميليك
DAP decarboxylase	DAP — دي كربوكسيلاز
Differential media	بيئات تفرقية
Diffusion	انتشار
Dihydroxyacetone	ثنائي هيدروكسي اسيتون
Dihydroxyacetone phosphate	فوسفات ثنائي هيدروكسي اسيتون
Diocious	منفصل الجنس
1,3-Diphosphoglucerate	1 و 3 — ثنائي فوسفوجلوسرات
Dipicolinic acid	حامض ثنائي بيكولينيك
Diploid	ثنائي المجموعة الكروموسومية
Dispersion	إنتشار
Displacement	إزاحة
Distillation	تقطير
Distilled beverages	مشروبات مقطرة
Distribution ratio	نسبة التوزيع
Disulfide	ثنائي الكبريتيد
Divergent lines	انساب متباعدة
Division	قسم
Donor	مانح
Dormancy of spores	سكون السبورات
Dry ice	ثلج جاف
Dry heat	حرارة جافة
Drying	تجفيف
Drugs	عقاقير ، ادوية
Du. / fermentation	تخميرات مزدوجة
Dwarfism	قزامة

E

Ebulliometer	جهاز قياس الكحول
Ecology	علم البيئة
Economics	اقتصاد
Edible oils	نہوت الطعام
Effector molecule	جزیئة المؤثر
Effluent	السائل المتدفق
Electrodes	الكتروءات (الاقطاب)
Electron acceptors	مستقبلات الالكترءن
Electron transport	نقل الالكترءن
Electron transport chain	سلسلة نقل الالكترءن
Eluate	السائل المسترد
Elution	استرداد
Elution volume	حجم الاسترداد
Emden-Meyerhof Parnas Pathway (EMP)	مسار امبءن مايرهوف بارناس
Endocellular enzymes	انزیمات خلوية داخلية
Endoenzymes	انزیمات داخلية
Endospores	سبورات داخلية
Endotoxins	سموم داخلية
End-point determination	تقدير (تحديد) نقطة النہاية
End-product inhibition	تثبيط الناتج النہائي
End-product repression	كبح الناتج النہائي
Endergonic reaction	تفاعل ماص للطاقة
Energy	طاقة
Energy coupling	ازءواج الطاقة
Energy rich comopunds	مركبات غنية بالطاقة
Energy source	مصدر الطاقة
Energy yielding metabolism	ايض منتج للطاقة
Enginered microbes	ميكروءبات مهندسة (أو موجهة)

Enriched media	بيئة معززة (مغناة)
Enrichment	تعزيز ، اغناء
Enrichment culture	مزرعة الاغناء
Entner-Doudoroff Pathway (DEDP)	مسار اتردودوروف
Enzymatic assays	طرق التحليل الانزيمية
Enzyme action	نشاط الانزيم (فعل الانزيم)
Enzyme formation	تكوين الانزيم
Enzyme induction	حث الانزيم
Enzyme purification	تنقية الانزيم
Enzyme reaction	تفاعل الانزيم
Enzyme repression	كبح الانزيم
Enzyme substrate complex	معقد انزيم — مادة التفاعل
Enzymes	انزيمات
Environment	ظروف بيئة
Equilibrium	اتزان
Ergot	ايرجوت
Erythromycin	ايريثروميسين
Essential nutrients	مغذيات رئيسية (اساسية)
Essential oils	زيوت عطرية
Esters	استرات
Ethane	ايثان
Ethanol	ايثانول
Ethyl alcohol	كحول الايثانيل
Eucaryota	حقيقة النواة
Eucaryotic organisms	كائنات حقيقية النواة
Evaporation	تبخير
Exclusion chromatography	كروماتوجرافي الرفض او الاقصاء
Exergonic reaction	تفاعل مطلق للطاقة
Exocellular enzymes	انزيمات خلوية خارجية
Ezoenzymes	انزيمات خارجية

Exotoxins

Exponential phase

Extinction

Extracellular

Extraction

سموم خارجية

طور النمو الاسمي (اللوغاريتمي)

انقضاء

خارج الخلية

استخلاص



Facultative anaerobes

Facultative autotrophs

False

Family

Fastidious

Fat

Fat production

Fatty acids

Feedback inhibition

Feed yeasts

Fermentation

Fermented food

Fermented milk

Fermentor

Fermentor design

Fertile

Filamentous fungi

Filamentous microorganisms

Film yeasts

Filter

Filter press

لاهوائيات اختياري

ذاتيات التغذية اختياري

كاذب

عائلة

صعبة الارضاء (المتطلبات)

دهن

انتاج الدهن

احماض دهنية

تثبيت التغذية الرجعية (الاسترجاعية)

خميرة علفية

تخمير

اغذية مخمرة

حليب مخمر

مخمر

تصميم المخمر

خصب

فطريات خيطية

احياء مجهرية خيطية

خميرة غشائية

مرشح

مرشح بالضغط

Filteration	ترشيح
Fish meal	مسحون السمك
Flagella	أشواط
Flame photometry	فوتومتري اللهب
Flavine adenine dinucleotide (FAD)	فلافين ادينين ثنائي النيوكليوتيد
Flavine mononucleotide (FMN)	فلافين ادينين احادي النيوكليوتيد
Flavoproteins	فلافوبروتينات
Flavor	نكهة
Flavoring agents	عوامل نكهة (منكهات)
Flocculation	تلييد ، تجمع
Flourescence	وميض ، فلورة
Flourometry	التحليل بالوميض (او الفلورة)
Flow rate	معدل السريان
Foam	رغوة
Fodder yeast	خميرة علفية
Folacin	فولاسين
Folic acid	حامض الفوليك
Food presevation	حفظ الاغذية
Food yeast	خميرة غذائية
Foot cell	خلية قدمية
Formaldehyde	فورمالدهيد
Formaline	فورمالين
Form-class	صورة صنف
Formic acid	حامض الفورميك
Fraction collector	جامع القططات (الاجزاء)
Freez-drying	تجفيد
Fructose	فركتوز
Fructose-6-phosphate	فركتوز -6- فوسفات
Fucoxanthin	فوكوزانثين
Fruiting bodies	اجسام ثمرية

Fumarase	فيومارينز
Fumaric acid	حامض الفيوماريك
Function	وظيفة
Functional groups	مجاميع وظيفية
Fungal enzymes	انزيمات فطرية
Fungal protease	بروتينيز فطري
Fungi	فطريات
Fungi imperfecti	فطريات ناقصة
Fungicides	مبيد الفطريات
Fusel oil	زيت كحولي (كحول عالي)

G

Galactonic acid	حامض جالاكطونيك
Galactose	جالاكتوز
Galactose-1-phosphate	جالاكتوز-1- فوسفات
Gametes	امشاج
Gamma radiation	اشعة جاما
Gas chromatography	الكروماتوجرافي الغازي
Gas adsorption chromatography	الكروماتوجرافي الغازي الامتزازي
Gas liquid chromatography	الكروماتوجرافي الغاز السائل
Gases	غازات
Gel filtration	الترشيح بالهلام
Gene amplification	تضخيم (تكبير) الجين
Genera	اجناس
Generation time	وقت الجيل
Generic name	اسم الجنس
Genes	جينات
Genetic block	تعطيل (اعاقه) وراثي
Genetic code	شفرة وراثية

Genetic information	معلومات وراثية
Genetic engineering	هندسة وراثية
Genetic map	خارطة وراثية
Genetic recombination	تجمع وراثي
Genetic stability	ثبات وراثي
Genetics	وراثية
Genotype	تركيب جيني او وراثي
Genus	جنس
Germicidal agents	عوامل اباداة الجراثيم
Germicides	مبيدات الجراثيم
Gibberellic acid	حامض الجبيليك
Gibberellins	جيريلينات
Gliding bacteria	البكتريا المنزلقة
Gluconic acid	حامض الجلوكونيك
Glucose	جلوكوز
Glucose fermentation	تخمير الجلوكوز
Glucose isomerase	جلوكوز آيسومريز
Glucose oxidase	جلوكوز اوكسيديز
Glucose-6-phosphate	جلوكوز -6- فوسفات
Glutamic acid	حامض الجلوتاميك
Glutamine	جلوتامين
Glutathione	جلوتاثيون
Glyceraldehyde-3-phosphate	جليسر الدهيد -3- فوسفات
Glyceric acid	حامض الجليسيريك
Glycerol	جليسرول
Glycerol phosphate	فوسفات الجليسرول
Glycerolphosphate dehydrogenase	جليسرول فوسفات ديهيدروجينيز
Glycogen	جلايكوجين
Glycogen granule	حببة جلايكوجين
Glycolysis	تحلل جلايكولي

Glyoxylate cycle	دورة الجلايوكسيلات
Gram negative	سالبة للجرام
Gram positive	موجبة للجرام
Granules	حببيبات
Gravimetric analysis	التحليل الوزني
Griseofulvin	جريسيوفولفين
Growth assay	التحليل بقياس النمو
Growth characteristics	صفات النمو
Growth curve	منحنى النمو
Growth factors	عوامل النمو
Growth rate	سرعة النمو
Growth stimulant	مثير أو منبه النمو
Growth stimulation	اثارة أو تنبيه النمو
Growth temperature	درجة حرارة النمو
Guanidine	جوانايلدين
Guanilic acid	حامض جوانايليك
Guanine	جواناين
Guanosine diphosphate (GDP)	جوانوسين ثنائي الفوسفات
Guanosine monophosphate (GMP)	جوانوسين احادي الفوسفات
Guanosine triphosphate (GTP)	جوانوسين ثلاثي الفوسفات

H

Halophilic bacteria~	البكتيريا المحبة للملح
Haploid	احادي المجموعة الكروموسومية
Headspace	فراغ رأسي
Heat resistance	مقاومة للحرارة
Heat shocking	صدمة حرارية
Hemicellulase	هيميسيلوليز
Hemicellulose	هيميسيليلوز

Hemophilia	ناعور (نزف دم وراثي)
Heterofermentative organisms	احياء مختلفة (غير متجانسة) التخمر
Heterogamic	خلايا مختلفة الامشاج
Heterogamic	مختلف (متغاير) الامشاج
Heterolactic fermentation	تخمر لاکتيكي مختلط (غير متجانس)
Heterothallie	متباين الثالوس
Heterotrophs	غير ذاتية التغذية
Hexokinase	هكسوكينيز
Hexose	هكسوز
Hog cholera	هيمضة الخنازير
Homofermentative organisms	احياء متجانسة التخمر
Homolactic fermentation	تخمر لاکتيكي متجانس
Homoserine	هوموسيرين
Hormones	هرمونات
Humidity	رطوبة
Hybridization	تهجين
Hydrocarbon fermentation	تخمر الهيدروكربون
Hydrogen	هيدروجين
Hydrogen sulfide	كبريتيد الهيدروجين
Hydrol	هيدرول (مولاس الذرة)
Hydrolases	هيدروليزات
Hydrolysis	تحلل مائي
Hydrometer	هيدروميتر ، مكثاف
Hydroxylation	اضافة الهيدروكسيل
Hygiene	صحة ، صحي
Hypoglycemia	فرط سكرية الدم
Hyper producer	مفرط في الانتاج
Hyper production	فرط الانتاج
Hyper sensitivity	فرط الحساسية
Hyphae	هيفات

I

Identification	تشخيص
Idiophase	طور الانتاج
Illegitimate recombination	تجمع وراثي شاذ
Imbhoff tank	حوض ايمهوف
Immobile phase	وجه غير متحرك (ثابت)
Immobile solvent	مذيب غير متحرك (ثابت)
Immobilized cells	خلايا غير طليقة (مثبتة)
Immobilized	انزيمات غير طليقة (مثبتة)
Immunology	مناعة
Impellers	دافعات
Incubation	تحضين
Indicator	دليل
Induced enzyme	انزيم محث (محدث)
Induced mutation	طفرة محثة (محدثة)
Inducing agent	عامل محث (مستحث)
Induction	احداث ، حث
Industrial fermentation	تخمير صناعي
Industrial microbiology	ميكروبيولوجي صناعي
Infection	اصابة ، عدوى
Inhibition	تثبيط
Inhibitors	مثبطات
Inoculation	تلقيح
Inoculation technique	طريقة التلقيح
Inoculum	لقاح (باديء)
Inoculum tanks	احواض اللقاح (الباديء)

Inorganic acids	احماض لاعضوية
Inosinic acid	حامض اينوسينيك
Inosine diphosphate(IDP)	اينوسين ثنائي الفوسفات
Inosine monophosphate (IMP)	اينوسين احادي الفوسفات
Inosine triphosphate (ITP)	اينوسين ثلاثي الفوسفات
Inositol	اينوسيتول
Insulin	انسولين
Interconversion	تحويل متبادل
Interferon protin	بروتين انترفيرون
Intermediary metabolism	ايض وسطي
Intermediate	مادة وسطية
Intracellular	داخل الخلية (ضمن الخلية)
Invertase	انفرتيز
Iodine	يود
Ion exchange	تبادل ايوني
Ion exchange resins	راتنجات التبادل الايوني
Iron	حديد
Isoamyl alcohol	كحول آيسوامايل
Isocitric acid	حامض آيسوستريك
Iso citric dehydrogenase	آيسوستريك ديهيدروجينيز
Isogamic	متماثل الامشاج
Isolation	عزل
Isomerization	آيسومرية
Isomers	آيسومرات
Isopropyl alcohol	كحول آيسوبروبايل
Itaconic acid	حامض ايتاكونيك

K

Kanamycins	كناميسينات
α - Keto acids	احماض α - كيتو
2- Ketogluconic acid	حامض 2 — كيتوجلوكونيك
5-Ketogluconic acid	حامض 5 — كيتوجلوكونيك
α - Ketogluaric acid	حامض α — كيتوجلوكونيك
Ketones	كيتونات
Kinetics	حركيات
Kojic acid	حامض الكوجيك
Kerbs Cycle	دورة كريس

L

Lactate	لاكتات
Lactic acid	حامض اللاكتيك
Lactic acid bacteria	بكتريا حامض اللاكتيك
Lactic acid dehydrogenase	لاكتيك اسيد ديهيدروجينيز
Lactobacilli	لاكتوباسيلاي
Lactose	لاكتوز
Lactose utization	استغلال اللاكتوز
Lag phase	طور الركود
Lard oil	شحم الخنزير
Late nutrient addition	الاضافة المتأخرة للمغذيات
Latent heat	الحرارة الكامنة
Legume inoculant	لقاح البقول
Lichens	اشنات
Life cycle	دورة حياة
Lipases	لايبيزات

Lipids	ليبيدات
Lipolytic bacteria	البكتريا المحللة للليبيدات
Liquefaction	اسالة ، اماعة
Liquid medium	بيئة سائلة
Liquid nitrogen	نتروجين سائل
Logarithmic phase	الطور اللوغاريتمي
Lyophilization	تجفيد
Lysine	لايسين
Lysate	متحلل
Lysis	تحلل (انحلال) الخلايا
Lysogenic microorganisms	احياء مجهرية محللة

M

Macromolecules	جزيئات كبيرة
Magnesium	مغنيسيوم
Maintenance	محافظة ، ادامة
Malate	مالات
Maleic acid	حامض المالك
Malic acid	حامض المالك
Malt	مولت (شعير منبت)
Malt extract	مستخلص المولت
Manganese	منغنيز
Mannitol	مانيتول
Manometer	مانوميتر (مقياس الضغط)
Mash	مزيج ، هريس
Measurement	قياس -
Mechanical aeration	تهوية ميكانيكية
Mechanical agitation	تقليب ميكانيكي

Media	بيئات
Mecium	بيئة
Meiosis	انقسام اختزالي (منصف)
Membrane filter	مرشح غشائي
Mercurochrome	ميركيوروكروم
Mesophiles	محببة للحرارة المعتدلة (المتوسطة)
Metabolic block	اعاقة (تعطيل) ايضية
Metabolic by-products	النواتج الثانوية الايضية
Metabolic control	سيطرة ايضية
Metabolic inhibitors	مثبطات ايضية
Metabolic intermediates	مواد وسطية ايضية
Metabolic pathways	مسارات (طرق) ايضية
Metabolic rates	معدلات ايضية
Metabolic response assay	التحليل بالاستجابة الايضية
Metabolism	ايض
Metabolites	مواد ايضية
Metals	معادن
Methane	ميثان
Methionine	ميتيونين
Methyl alcohol	كحول مثيلي
Mevinolin	ميفينولين
Michaelis constant	ثابت ميكيليس
Microaerophiles	محببة لظروف قليلة الهواء
Microbe	ميكروب (كائن حي مجهرى)
Microbal cells	خلايا ميكروبية
Microbial fermentations	تخمرات ميكروبية
Microbial metabolism	ايض ميكروبي
Microbial physiology	فسيولوجية ميكروبية
Microbial transformation	تحولات ميكروبية
Microbiological assays	طرق التحليل الميكروبيولوجية

Microcarrier	حامل دقيق
Microorganisms	احياء مجهرية
Mineral oil	زيت معدني
Mitochondria	مايتوكوندريا
Mitochondrial membrane	غشاء المايتوكوندريا
Mitosis	انقسام اعتيادي
Mixed cultures	مزارع مختلطة
Mobile phase	وجه متحرك (غير ثابت)
Mobilie solvent	مذيب متحرك
Molar absorptivity	امتصاصية جزيئية
Molasses	مولاس
Molds	اعفان
Molecular sieving	غربلة جزيئية
Molybdenum	موليبدنوم
Monochromatic	احادي الطول الموجي
Monochromator	موحد الطول الموجي (الضوء)
Monoecious	احادي المسكن
Monosodium glutamate (MSG)	جلوتامات احادي الصوديوم
Morphology	مورفولوجي (علم الشكل)
Motile	متحرك
Motor	محرك
Multi enzyme system	نظام متعدد الانزيمات
Multi-stage	متعدد المراحل
Multiple-step fermentation	تخمير متعدد الخطوات
Municipal waste	مخلفات البلدية
Mushroom	عش الفراب (عرھون)
Mutagen	مطفّر
Mutagenic agents	عوامل مطفرة
Mutagensis	تطفّر
Mutant strain	سلالة طفريّة

Mutants	طفرات
Mutation	طفرة
Mutational block	اعاقة (تعطيل) طفرية
Mycelial mat	حصيرة ميسيليوم
Mycelium	ميسيليوم
Mycology	علم الفطريات

N

Natural fermentations	تخميرات طبيعية
Napthoquinones	نافثوكينون
Neomycin	نيوميسين
Nephelometer	مقياس الكدر (جهاز قياس الكدر)
Newtonian fluids	سوائل نيوتونية
Niacin	نياسين
Nicotin amide-adenine dinucleotide (NAD)	نيكوتين اميد ادينين ثنائي النيوكليوتيد
Nicotin amide-adenine-dinucleotide phosphate (NADP)	فوسفات نيكوتين ادينين ثنائي النيوكليوتيد
Nitrate	نترات
Nitrification	نترقة ، نترجة
Nitrifying bacteria	بكتريا النأزت
Nitrogen	نتروجين
Nitrogen fixation	تثبيت النتروجين
Nitrogen mustard	خردل نتروجيني
Nitrogenous compounds	مركبات نتروجينية
Nitrous acid	حامض النتروز
Non-Newtonian fluids	سوائل غير نيوتونية
Novobiocin	نوفوبيوسين
Nucleic acid	حامض نيوكلييك

Nucleosides	نيوكليوسيدات
Nucleotides	نيوكليوتيدات
Nucleus	نواة
Nutrient	مغذي (مادة مغذية او غذائية)
Nutrient agar	اجار مغذي
Nutrition	تغذية
Nutritional mutations	طفرات تغذوية
Nutritional requirements	احتياجات تغذوية (غذائية)

O

Obligate	اجباري (اساسي)
Obligative anaerobes	لاهوائيات اجبار
Octadecanol	اوكتاد يكانول
Oils	زيوت
Oogonia	حافضة بيضية
Oospores	سبورات بيضية
Operating gene	الجين المحدث
Operator	المحدث
Operon	اوبيرون
Optimum temperatur	درجة حرارة مثلى
Order	رتبة
Organic acids	احماض عضوية
Organic substances	مواد عضوية
Orthophosphate cleavage	تكسر اورتوفوسفات
Osmosis	ازوموزية ، تناضح
Osmophilic	محبة للازوموزية
Osmotic pressure	ضغط ازوموزي
Over-producer	مفرط في الانتاج
Over-production	فرط الانتاج

Ovum	بيضة
Oxalate	اوكرالات
Oxaloacetate	اوكرالواسيتات
Oxidation	اكسدة
Oxidation ponds	برك الاكسدة
Oxidation-reduction potential	جهد الاكسدة والاختزال
Oxidative decarboxylation	ازالة الامين التأكسدية
Oxidative decarboxylation	ازالة الكربوكسيل التأكسدية
Oxidative phosphorylation	الفسفرة التأكسدية
Oxidative transformation	التحول التأكسدي
Oxidized	مؤكسد ، متأكسد
Oxidizing agents	عوامل الاكسدة (التأكسد)
Oxygen	اوكسجين
Oxygen absorption	امتصاص الاوكسجين
Oxytetracycline	اوكسي تتراسيكلين

P

Paladino shaker	هزاز بالادينو
Pantothenic acid	حامض البانتوثينيك
Paper chromatography	التحليل الكروماتوجرافي الورقي
Para formaldehyde	بارافورمالدهيد
Parasites	متطفلات ، طفيليات
Partition chromatography	التحليل الكروماتوجرافي بالتجزيء او الفصل
Partition coefficient	معامل الفصل او التجزيء
Passive diffusion	انتشار سلبي
Pasteur effect	تأثير باستور
Pasteurization	بسترة
Patents	براءات اكتشاف (اختراع)

Pathogenic microorganisms	احياء مجهرية مرضية
Pathogens	ممرضات
Pectic acids	احماض البكتيك
Pectic enzymes	انزيمات بكتينية
Pectic substances	مواد بكتينية
Pectin	بكتين
Pectinases	بكتينيزات
Pectolytic enzymes	انزيمات محللة للبكتين
Penicillin	بنسلين
Penicillin G	بنسلين G
Pentose phosphathway	مسار فوسفات البنتوز
Pentoses	بنتوزات
Pepsin	ببسين
Peptidases	ببتيديزات
Peptide bond	رابطة ببتيدية
Peptone	بيتون
Peridinin	بيرويدنين
pH	اس هيدروجيني
Phage	فاج
Phenol	فينول
Phenotype	الشكل (النمط) الظاهري
Phenylacetic acid	حامض فينيل استيك
Phialide	ذنب
Phosphatase	فوسفاتيز
Phosphate donor	مانح الفوسفات
Phosphoarginine	فوسفو ارجينين
Phosphocreatine	فوسفو كرياتين
Phosphodiester	فوسفو ثنائي الاستر
Phosphoenol pyruvate	فوسفو اينول بيروفات
Phosphoenol pyruvate carboxyase	فوسفو اينول بيروفات كربوكسيلايز
Phosphoglucumutase	فوسفو جلو كوميو تيز

6-Phosphogluconate	6 — فوسفوجلوكونات
6-Phosphogluconolactone	6 — فوسفوجلوكونولاكتون
2-phosphoglycerate	2 — فوسفوجليسيرات
3-Phosphoglycerate	3 — فوسفوجليسيرات
Phosphorus	فوسفور
Phosphorylation	فسفرة
Photoelectric colorimeter	مقياس اللون الكهروضوئي
Photometer	مقياس الضوء
Photosynthesis	تخليق ضوئي
Phototrophic microorganisms	احياء مجهرية ضوئية التغذية
Physiochemical assays	طرق التحليل الفيزيوكيميائية
Pickles	مخللات
Pigment	خضاب
Picking	تلقيح
Planogametes	طحالب هائمة (بلانكتون)
Planogametes	أمشاج مسطحة
Plasmids	بلاسميدات
Plasmodium	بلاسموديوم (مصورة)
Plasmolysis	بلزمة (انكماش بروتوبلازم الخلية)
Plastids	بلاستيدات
Plate-count technique	طريقة العد بالاطباق
Polarimeter	مقياس الاستقطاب الضوئي
Polarimetry	طريقة القياس بالاستقطاب الضوئي
Pollution	تلوث
Polycondensation	تكثيف تجميعي
Polyethylene glycol	بولي اثيلين جلايكول
polymerase	بوليمريز
Polymierization	بلمرة
Polymixns	بوليميكسينات
Polynucleotides	نيوكليوتيدات متعددة

Polypeptides	ببتيدات متعددة
Polysaccharides	سكريات متعددة
Polystyrene	ستيارين متعدد
Potassium	بوتاسيوم
Pour-plate technique	طريقة الصب في الاطباق
Precursors	مولدات
Pregermination	انبات مسبق
Preservation	حفظ
Primary metabolites	مواد أيضية أولية
Primary products	نواتج أولية
Primary screening	غربلة أولية
Primary stocks	خزين اولي (أساسي)
Procaryota	بدائيات النواة
Procaryotic organisms	احياء بدائية النواة (غير حقيقية النواة)
Product inhibition	تنشيط الناتج
Production	انتاج
Products	نواتج ، منتجات
Proflavine	بروفلافين
promiscuous	مختلطة ، غير شرعية
Promotor	محث
Proof	بروف
Propionic acid bacteria	بكتريا حامض البروبيونيك
Proteases	بروتيازات
Protein antigens	مستضدات البروتين
Protein biosynthesis	التخليق الحيوي للبروتين
Proteins	بروتينات
Proteolysis	تحلل البروتين
Proteolytic bacteria	البكتريا المحللة للبروتين
Proteolytic enzymes	الانزيمات المحللة للبروتين
Protista	الاوليات

Protoplasm	بروتوبلازم
Protoplasmic membrane	غشاء بروتوبلازمي
Protoplast fusion	اندماج البروتوبلاست
Prototrophic	ذات قدرة تخليقية كاملة
Protozoa	بروتوزوا
Psychrophiles	محبة للبرودة (الحرارة المنخفضة)
Pure culture	مزرعة نقية
Purification	تنقية
Purines	بيورينات
Putrification	فساد تعفني
Pyconometer	قنية الكثافة
Pyridoxal phosphate	فوسفات البيريدوكسال
Pyridoxin	بيريدوكسين
Pyrimidines	بيميدينات
Pyrophosphate cleavage	تكسر بيروفوسفات
Pyruvate	بيروفات
Pyruvic acid	حامض البيروفيك
Pyruvic acid decarboxylase	بيروفيك أسيددي كربوكسيليز
Pyruvic acid dehydrogenase	بيروفيك أسيد ديهيدروجينيز
Pyruvic acid kinase	بيروفيك أسيد كينيز

Q

Quantitative	كمي
Quality control	سيطرة نوعية
Quinine	كوينين
Quinones	كينونات

R

Racemic mixture	مخلوط راسيمي
Radiation	أشعاع، أشعة
Raffinose	رافينوز
Ratio	نسبة، معدل
Raw material	مادة خام
Reagent	كاشف
Reciprocating shaker	هزاز ترددي
Recombinant DNA	DNA ذو التشكيلات الجينية المختلفة
Recombinants	افراد ذو التشكيلات الجينية المختلفة
Recombination	ظاهرة التجمع الوراثي
Recorder	مسجل
Recovery	استرجاع
Reduced	مختزل
Reduction	اختزال
Reductive carboxylation	اضافة الكربوكسيل الاختزالية
Refractive index	معامل الانكسار
Refractometer	رفراكتوميتر
Refractometry	طرق القياس بأنكسار الضوء
Regeneration	تجديد
Regulate	ينظم
Regulated enzyme	انزيم منظم
Regulated gene	جين منظم
Regulation	تنظيم
Regulatory enzyme	انزيم تنظيمي
Regulatory gene	جين تنظيمي
Regulatory mechanisms	ميكانيكيات منظمة
Relative front (Rf)	المسافة النسبية للهجرة
Relative solubility	ذائبية نسبية

Release factor	عامل إطلاق
Rennet	رين
Repair mechanisms	ميكانيكيات الإصلاح أو التعويض
Replacement	إحلال
Replica plating technique	طريقة الطبع المتكرر بالاضافة
Replication	تكرار
Repression	كبح ، قمع
Repressor	كابع ، قامع
Reproduction	تكاثر ، تناسل
Reproductive cells	خلايا تكاثرية
Research	بحث
Resin	راتنج
Resistance	مقاومة
Resolution	فصل
Respiration	تنفس
Respiratory chain	سلسلة تنفسية
Respirometer	مقياس التنفس
Resting cell	خلية مستريحة (هاجعة)
Restriction	تقييد ، تحديد
Restriction enzymes	انزيمات قيدية
Retardation growth phase	طور بطء النمو
Retention	احتفاظ
R_f -values	قيم R_f
Retroinhibition	تشبيط
Rhizoid	اشباه الجذور
Riboflavine (Vit.B ₂)	رايوفلافين
Ribonucleic acid (RNA)	حامض رايبونوكلييك
Ribose	رايوز
Ribose-5-phosphate	رايوز-5-فوسفات
Ribosomes	رايوسومات

Ribulose-5-phosphate
Rifamycin
Rontgen rays
Rotary shaker
Rust

رايبولوز-5-فوسفات
ريفاميسين
اشعة رونتجن
هزاز دوراني
صدأ

S

Sac fungi
Saccharification
Saccharometer
Saccharolytic bacteria
Saccharophilic
Salts
Saprophytes
Scattered light
Sclerotia
Screening
Secondary metabolites
Secondary products
Secondary screening
Sectoring culture
Secretion
Sedimentation
Selection
Selective media
Selective ion electrodes
Selenium
Sensitivity hypha

فطريات كيسية
تسكر
مقياس السكر
البكتريا المحللة للسكر
محببة للسكر
املاح
مترمحات ، رميات
ضوء مشتت
أجسام حجرية
غريلة
مواد أيضية ثانوية
نواتج ثانوية
غريلة ثانوية
مزرعة مجزأة
إفراز
ترسيب
انتخاب ، انتقاء
بيئة انتخائية (انتقائية)
الكترودات ايونية انتقائية
سيلينيوم
اختبارات الحساسية

Septated hyphae

Septic tank

Separation

Serial dilution technique

Serine

Sexual recombination

Sexual reproduction

Sewage

Shake-flask

Shake-flask fermentation

Shaker

Shaking

Silica gel

Silicone compounds

Single cell protein (SCP)

Single cell technique

Single stage

Slime

Slime molds

Sludge

Sludge digestion

Smut

Soil

Soluble

Solute

Solution

Solvent

Sorbitol

Sorbose

هيفات مقسمة

حوض التعفن

فصل

طريقة التخفيف المتسلسل

سيرين

تجمع وراثي جنسي

تكاثر جنسي

مياه البالوعات

الدورق المرجوح

تخمّر الدورق المرجوح

هزاز

هز ، رج ، تقليب

هلام السليكا (سليكاجل)

مركبات السليكون

بروتين الخلية الواحدة

طريقة عزل الخلايا الفردية

مرحلة مفردة

مادة لزجة

اعفان (فطريات) لزجة

وحل

هضم الوحل

تفحم

تربة

ذائب

مذاب

محلول

مذيب

سوربيتول

سوربوز

Soybean meal	مسحوق فول الصويا
Spargers	رشاش ، نافث
Species	نوع
Specific	نوعي
Specific activity	نشاط نوعي (فعالية نوعية)
Specific gravity	وزن نوعي
Spectrophotometer	مطياف
Spectrophotometric analysis	التحليل الطيفي
Spoilage	فساد
Spontaneous	ذاتي ، تلقائي
Spontaneous fermentation	تخمير ذاتي (تلقائي)
Spontaneous generation	توالد ذاتي (تلقائي)
Spontaneous mutation	طفرة تلقائية
Sporangia	حافظات سبورية
Sporangiophore	حامل سبوري
Sporangiospore	سبور حافضي
Sporangium	حافضة سبورية
Spore forming bacteria	بكتريا مكونة للسبورات
Spores	سبورات (أبواغ)
Sporulation	تبويغ
Stabilized sludge	وحل منشط
Staining	تصنيف
Standard curve	منحني قياسي
Starch	نشأ
Starter	بادئ ، لقاح
Starter culture	مزرعة البادئ
Starvation	جوع ، مجاعة
Stationary growth phase	طور النمو الثابت
Stationary phase	الوجه الثابت
Static cultures	مزارع ساكنة

Static test tubes	انابيب اختبار ساكنة
Statospores	سبورات ساكنة
Steady state	الحالة الثابتة
Steam	بخار
Steam seal	بخار تعقيم
Sterility	عقم
Sterilization	تعقيم
Steroids	ستيرويدات
Steroids transformation	تحول الستيرويدات
Stimulants	منبه ، مثبر
Stimulation	تنبيه ، إثارة
Stimulatory	تنسيبي
Stinkhorns	قرون تننة
Stock-cultures	مزارع خزين
Stolon	مداد
Storage	خزن
Strains	سلالات
Strain selection	اختيار السلالة
Streak-plate technique	طريقة التخطيط على الاجار
Streptomycin	ستربتوميسين
Strict autotrophs	ذاتية التغذية إجبار
Strict heterotrophs	غير ذاتية التغذية إجبار
Strigma	ذنيب
Strigmata	ذنيبات
Structure	تركيب ، بناء
Sub-class	تحت الصف
Sud-division	تحت القسم
Submerged culture	مزرعة مغمورة
Substrate	مادة تفاعل
Substrate level phosphorylation	فسفرة مستوى مادة التفاعل

Subtilin	سبتيلىن
Succinate	سكسينات
Succinic acid	حامض السكسينيك
Succinic acid dehydrogenase	سكسينيك اسيد ديهيدروجينيز
Succinyl-Co A	سكسينيك كوا
Succinyl thiokinase	سكسينيك ثيوكينيز
Sucrose	سكرورز
Sugar	سكر
Sulphydryl groups	مجاميع السلفاهايدريل
Sulfite waste liquor	محلول (ماء) كبريتيتي متخلف
Sulfer dioxide	ثاني اوكسيد الكبريت
Surface tension	توتر سطحي
Survival of microbes	بقاء الميكروبات
Symbiosis	تعاش ، تكافل
Synergism	تآزر ، تعاون
Synthesis	تخليق
Synthetic media	بيئة تخليقية (تركيبية)

T

Temperature	درجة الحرارة
Template	قالب ، طبقة
Terramycin	تيراميسين
Test organism	كائن الاختبار
Tetracyclines	تتراسيكلين
Thallophyta	ثالوسيات
Thermal Death Point (TDP)	درجة الموت الحراري
Thermal Death Time (TDT)	زمن الموت الحراري
Thermodynamics	ديناميكا حرارية

Thermophiles	محبة للحرارة العالية
Thiamin	ثيامين
Thin-layer chromatography (TLC)	التحليل الكروماتوجرافي بالطبقة الرقيقة
Thin-layer gel	هلام الطبقة الرقيقة
Thiol esters	استرات الثيول
Thymine	ثايمين
Top fermenting yeast	خميرة التخمر السطحي
Total capacity	سعة كلية
Toxins	سموم (توكسينات)
Trace elements	عناصر نادرة (ضئيلة)
Transamination	نقل مجاميع الامن (عبور اميني)
Transcription	نسخ
Transduction	التحول المنقول
Transfer	نقل ، تحويل
Transferase	ترانسفيريز
Transformation	تحول
Translation	ترجمة
Transmitted light	ضوء نافذ
Transmittance	نفاذية
Transport	نقل
Tricarboxylic acid cycle (TCA)	دورة حامض ثلاثي الكربوكسيل
Trichome	ترايكوم (على هيئة شعيرة)
Trickling filter	مرشح بطيء التقطر
Trophophase	طور النمو
True bacteria	بكتريا حقيقية
True fungi	فطريات حقيقية
True yeasts	خمائر حقيقية
Trypsin	تريسين
Tryptophan	ترتوفان
Turbidimetric analysis	التحليل بقياس العكارة

Turbidity

Turbulent flow

Turbulence

Turgor pressure

Typical fermentation

Typical media

عكارة

سريان مضطرب (دوامي)

اضطراب (دوامي)

ضغط انتفاخي

تخمير نموذجي

بيئة نموذجية

U

Upiquinone

Ultraviolet light

Unicellular organisms

Unisexual

Uracil

Urea

Uridine diphosphate (UDP)

UDP-galactose

UDP-glucose

Uridine triphosphate (UTP)

Utility

Utilization

يوبيكينون

اشعة فوق البنفسجية

احياء احادية الخلية

احادي الجنس

يوراسيل

يوريا

يوريدين ثنائي الفوسفات

UDP — جالاكتوز

UDP — جلوكوز

يوريدين ثلاثي الفوسفات

منفعة ، فائدة

استفادة ، استغلال

V

Vaccins

Vacuole

Valine

Variants

لقاحات فاكسينات

فجوة

فالين

ضروب

Z

Zinc

Zone

Zone of inhibition

Zoospores

Zygospores

Zygot

زنك ، خارصين

بقعة ، منطقة

منطقة التثبيط

سبورات سابجة

سبورات لاقحية

لاقحة

INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

VOLUME 1

FUNDAMENTALS OF INDUSTRIAL FERMENTATIONS

BY

DR. ADIL GEORGE SACHDE
(Assis. Prof.)

DR. ALA Y. MOHAMED ALI
(Lecturer)

**DEPARTMENT OF FOOD AND DAIRY TECHNOLOGY
COLLEGE OF AGRICULTURE- UNIVERSITY OF BASRAH**